

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**KALPAIN İNHİBİSYONUNUN RATLARDA OLUŞTURULAN
KONTRAST MADDE NEFROPATİSİ ÜZERİNE
KORUYUCU ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Kenan Evren ÖZTOP**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Hüseyin ÇELİKER**

**ELAZIĞ
2011**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. İrfan ORHAN

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Emir DÖNDER

İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Hüseyin ÇELİKER _____

Danışman

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Emir DÖNDER _____

Prof. Dr. Hüseyin ÇELİKER _____

Prof. Dr. İbrahim Halil BAHÇECİOĞLU _____

Prof. Dr. Ayhan DOĞUKAN _____

Doç. Dr. Yusuf ÖZKAN _____

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim sürecinde, eğitimime büyük katkıları olan başta tez danışmanım Prof. Dr. Hüseyin ÇELİKER olmak üzere, diğer saygıdeğer hocalarım; Prof. Dr. Emir DÖNDER Prof. Dr. Ahmet IŞIK, Prof. Dr. İ. Halil BAHÇECİOĞLU, Prof. Dr. Ayhan DOĞUKAN, Doç. Dr. Yusuf ÖZKAN, Doç. Dr. Mehmet YALNIZ, Doç. Dr. E. Tamer ELKIRAN, Doç. Dr. S. Serdar KOCA, Doç. Dr. Bilge AYGÜN, Yrd. Doç. Dr. Cem AYGÜN, Yrd. Doç. Dr. Ulvi DEMİREL'e, yan dal ihtisası yapmakta olan Uzm. Dr. İrem PEMBEGÜL YİĞİT, Uzm. Dr. Kader UĞUR AKSOY ve Uzm. Dr. Metin ÖZGEN'e teşekkür ederim.

Tezimin her aşamasında desteğini gördüğüm, deneyiminden ve bilgisinden faydalandığım Fırat Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'ndan Uzm. Dr. Tuncay KULOĞLU ve Doç. Dr. Özlem DABAK'a, Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'nden Dr. Osman GÜLER ve Dr. Mehtap ÖZÇELİK'e teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalıştığım samimi ve dostane duygular paylaştığım tüm asistan ve uzman olmuş arkadaşlarıma, iç hastalıkları servislerinde çalışan tüm hemşire, personel ve kliniğimiz çalışanlarına teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde en büyük pay sahibi olan ve hayatımın tüm aşamalarında olduğu gibi asistanlığım süresince de bana sevgi ve desteklerini bir an bile eksik etmeyen ve bana sabırlarını sunan sevgili annem, babam ve kardeşime teşekkür ederim.

Tez çalışmam esnasında her türlü desteğini esirgemeyen, varlığıyla güven veren yol arkadaşım, sevgili eşim Fatma Anıl ÖZTOP'a ve biricik kızımız Zuhâl'e teşekkür ederim.

ÖZET

Kontrast madde nefropatisi (KMN), kontrast madde (KM) kullanımı sonrası görülen kompleks bir akut böbrek yetmezliği sendromu olup hastanede gelişen akut böbrek yetmezliklerinin en sık üçüncü sebebidir. KMN, hastanın hastanede kalış zamanını, tedavi maliyetini ve hastanın mortalite ve morbiditesini belirgin bir şekilde artırır. KMN patofizyolojisinde, renal kan akımındaki hemodinamik değişikliklere bağlı gelişen renal medüller hipoksi, KM'nin direkt sitotoksik etkileri ve oksidatif stres gibi mekanizmalar suçlansa da, altta yatan neden henüz net olarak aydınlatılamamıştır. Antioksidan ve antiapoptotik etkileri bilinen kalpain inhibitör-1 (KAL-1) uygulaması ile böbrekte iskemi/reperfüzyon hasarının engellendiğine dair çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmada, ratlarda deneysel olarak oluşturulmuş KMN modelinde, KAL-1'in antioksidan etkilerinin ve rat böbrek dokusundaki apoptotik değişiklikler üzerine olan koruyucu etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmada, 28 adet 8-10 haftalık Sprague Dawley cinsi dişi ratlar kullanıldı. Deneysel hayvanları her grupta 7 hayvan olacak şekilde 4 gruba ayrıldı: Kontrol grubu, KM verilen grup (KM), KAL-1 verilen grup (KAL-1) ve KAL-1 ve KM verilen grup (KM +KAL-1) Kontrol grubuna herhangi bir uygulama yapılmadı. Kontrol grubu dışındaki gruplardaki ratlar 3 gün susuz bırakıldı. KMN, dehidretasyon periyodundan sonra, KM ve KM + KAL-1 gruplarındaki ratlara yüksek ozmolal KM diatrizoate (6 ml/kg) kuyruk venlerinden uygulanması suretiyle indüklendi. KAL-1 uygulaması 10 mg/kg dozunda intraperitoneal olarak, KAL-1 ve KM + KAL-1 gruplarına KM uygulamasından 30 dakika önce yapıldı. Böbrek fonksiyon parametreleri ve böbrek dokusundaki oksidatif stress belirteçleri ölçüldü. Deneysel sonrasında sıçanlar dekapite edilerek böbrek dokuları çıkarıldı. Böbrek dokularına Hematoksilin- Eozin (H&E), periyodik asit shiff (PAS) ve TUNEL boyama yapıldı.

Sadece KM grubunda, serum kreatinin ve üre değerlerinde anlamlı yükselme bulundu (sırasıyla, $p<0.002$, $p<0.002$). KM + KAL-1 grubunda serum kreatinin ve üre seviyesi KM grubuna göre belirgin olarak düşük saptandı (sırasıyla, $p<0.002$, $p<0.007$). Doku malonildialdehid (MDA) düzeyleri KM + KAL-1 grubunda KM grubuna göre daha düşük saptandı. Katalaz (CAT) aktivitesi KM ile birlikte KAL-1 verilen grupta kontrol grubuna göre yüksek, KM grubuna göre düşük olarak izlendi.

Süperoksit dismutaz (SOD) seviyelerinde gruplar arasında anlamlı farklılık izlenmedi.

Bu çalışmada KM grubu ratların böbrek dokularında PAS boyaması sonucu glomerüllerde yapısal değişiklikler, mezengial matriks artışı, medüllada infiltratif hücre artışı belirgin olarak görüldü. Tübüllerde dilatasyon, tübül epitellerinde ayrılma ve bozulmalar ile vakuolizasyonu gösteren şeffaf görünümlü tübüller gözlemlendi. KAL-1 ve KM + KAL-1 gruplarında ise kontrol grubuna yakın histolojik bulgular mevcuttu. TUNEL boyamada, KM grubundaki ratların renal dokularında kontrol grubuna göre anlamlı olarak apoptotik hücre artışı gözlemlendi. KM + KAL-1 grubunda ise KM grubuna göre apoptotik hücrelerde azalma gözlemlendi.

Sonuç olarak, bu çalışmanın sonuçları KMN patogenezinde oksidatif stres ve apoptozisin rolü olduğunu desteklemektedir. KAL-1 uygulaması ile oksidatif stres ve histolojik hasarın azaltılabileceğini göstermiştir. Bu çalışmanın neticesinde elde edilen veriler, başka klinik ve deneysel çalışmalarla desteklenmelidir.

Anahtar Kelimeler: Kontrast madde nefropatisi (KMN), apoptozis, oksidatif stres, kalpain inhibitörü-1 (KAL-1)

ABSTRACT

PROTECTIF EFFECT OF CALPAIN INHIBITION ON CONTRAST-INDUCED NEPHROPATHY IN RATS

Contrast-induced nephropathy (CIN) is a complex syndrome of acute renal failure occurring after the use of contrast media and is the third most common cause of acute kidney injury in hospitalized patients. CIN is associated with increased morbidity and mortality, and increased costs of medical care. Although the underlying mechanisms of CIN is unclear, some mechanisms are suspected such as haemodynamic changes of renal blood flow, which lead to hypoxia of the renal medulla, direct toxic effects of contrast media (CM) on renal cells and oxidative stress. It was shown that calpain inhibitor-1 (CAL-1), which has antioxidant and antiapoptotic effects, attenuated the renal ischemia-reperfusion injury. In this study, antioxidant and protective effects of CAL-1 on apoptotic changes of the rat renal tissue in experimental model of CIN were investigated.

Twenty-eight Sprague Dawley female rats, aged 8-10 weeks were used. The experimental animals were divided into 4 groups that have 7 animals in each group: control, contrast media (CM), CAL-1 and CAL-1 + CM. No application made to the control group (group 1). Exception of control group, the others was left for 3 days without water. CIN was induced by administration of high-osmolal contrast media diatrizoate (6 ml/kg) after 48 h of dehydration into the tail vein. Rats of CAL-1 and CM + CAL-1 groups were administered Cal I-1 (10 mg/kg, IP) 30 minutes before administration of CM. Kidney function parameters, renal tissue oxidative stress markers were measured. After the experiment rats were decapitated and renal tissues were obtained and dyed with Haematoxylin-Eosin, periodic acid Schiff (PAS) and TUNEL stains.

Increases of serum creatinine and urea levels in CM group were significantly high than control group (respectively, $p < 0.002$, $p < 0.002$). Serum creatinine and urea levels of CM + CAL-1 group were significantly lower than those in CM group (respectively, $p < 0.002$, $p < 0.007$). Tissue malonyldialdehyde (MDA) levels in CM + CAL-1 group were lower than in CM group. In CM + CAL-1 group catalase (CAT) enzyme activity was higher than the control group but lower than the CM group.

Superoxide dismutase (SOD) activity showed no significant difference between the groups.

In this study were observed structural changes in glomeruli, mesangial matrix hypertrophy, increase of infiltrating cells in medulla, tubular dilatation, injury of tubular epithelium, transparent tubuli with vacuolisation on the renal tissues of CM group rats with PAS staining. But in CM + CAL-1 and CAL-1 group, there were similar histological findings with control group. CM group had a significant increase in apoptotic cells with TUNEL staining. There was a significant reduction in apoptotic cells in CM + CAL-1 group compared to diabetic group.

In conclusion, these results showed that oxidative stress and apoptosis have important role in pathogenesis of CIN and CAL-1 has a protective effect against CIN on the basis of the biochemical and pathological findings. The data obtained from this study, should be supported with other clinical and experimental studies.

Key Words: Contrast-induced nephropathy (CIN), apoptosis, oxidative stress, calpain inhibitor-1 (CAL-1).

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
TABLO LİSTESİ	x
ŞEKİL LİSTESİ	xi
KISALTMALAR LİSTESİ	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Kontrast Madde Nefropatisi	2
1.1.1. Tanım	2
1.1.2. İnsidans	2
1.1.3. Kontrast Maddeye Bağlı Nefrotoksisite Mekanizmaları	3
1.1.3.1. Renal Hemodinamik Değişiklikler	4
1.1.3.2. Osmolalitenin Rolü	6
1.1.3.3. Direkt Toksik Etkiler, Oksidatif Stres ve Apoptozis	6
1.1.3.4. Diğer Etkiler	8
1.1.4. Risk Faktörleri	9
1.1.4.1. Önceden Var Olan Renal Bozukluk	9
1.1.4.2. Yaş	10
1.1.4.3. Diabetes Mellitus	10
1.1.4.4. Kalp Yetmezliği	11
1.1.4.5. Hipotansiyon ve Hipertansiyon	11
1.1.4.6. Anemi ve İmmünglobülinopatiler	12
1.1.4.7. Nefrotoksik İlaçlar	12
1.1.4.8. Kontrast Madde	13
1.1.5. Klinik Özellikler	14
1.1.6. Kontrast Madde Nefropatisinin Engellenmesi	16
1.1.6.1. Hidrasyon	16
1.1.6.2. Kontrast Maddenin Tipi, Veriliş Sıklığı ve Miktarı	17

1.1.6.3. N-Asetil Sistein	18
1.1.6.4. Sodyum Bikarbonat	18
1.1.6.5. Dopamin / Fenoldopam	19
1.1.6.6. Kalsiyum Kanal Blokerleri	19
1.1.6.7. Teofilin / Aminofilin	20
1.1.6.8. Profilaktik Hemodiyaliz ve hemofiltrasyon	20
1.1.6.9. Diğer alışmalar	20
1.2. Sistein Proteazlar	21
1.2.1. Renal Hücre lmnde Kalpain ve Kaspazlar Arasındaki Etkileşim	22
1.2.2. Kalpain İnhibitörleri	23
2. GEREÇ VE YÖNTEM	25
2.1. Kimyasal Maddeler	25
2.2. Deney Hayvanları	25
2.3. Kontrast Madde Nefropatisi Oluşturulması	25
2.4. Deney Gruplarının Oluşturulması	26
2.5. Kan ve Doku rneklerinin Toplanması	26
2.6. Biyokimyasal Değerlendirme	27
2.6.1. Serum re ve Kreatinin lm	27
2.6.2. Dokuda Malonildialdehid Düzeylerinin lm	27
2.6.3. Dokuda Süperoksit Dismutaz Düzeyinin Belirlenmesi	27
2.6.4. Dokuda Katalaz Düzeyinin Belirlenmesi	27
2.7. Histolojik alışma	28
2.8. TUNEL (TdT-mediated nick and labeling technique) Metodu	29
2.9. İstatistiksel Analiz	30
3. BULGULAR	31
3.1. Klinik ve Biyokimyasal Bulgular	31
3.1.1. Serum re ve Kreatinin Düzeyleri	31
3.1.2. Doku Süperoksit Dismutaz, Katalaz ve Malonildialdehid Düzeyleri	33
3.2. Histopatolojik Bulgular	35
3.3. TUNEL Bulguları	41
4. TARTIşMA	44
5. KAYNAKLAR	50
6. ZGEMİş	66

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Kontrast ilişkili nefropati için risk faktörleri	10
Tablo 2. Mehran ve arkadaşlarının perkütan koroner girişimden sonra ortaya çıkabilecek KMN riskini skorlama yöntemi	17
Tablo 3. Yüksek riskli hastalarda kontrast nefropatiyi önlemeye yönelik stratejiler	21
Tablo 4. Histolojik takip serileri	28
Tablo 5. Histopatolojik hasarın derecesi	28
Tablo 6. TUNEL boyama işlemi	29
Tablo 7. TUNEL boyanma yaygınlığının derecesi	30
Tablo 8. Çalışma gruplarında klinik ve laboratuvar veriler	31

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Kontrast maddeye bağlı nefrotoksisite mekanizmaları	3
Şekil 2. Suda çözünen kontrast maddelerin özellikleri	14
Şekil 3. Renal hücre hasarında kalpain ve kaspazlar arasındaki etkileşim	24
Şekil 4. Çalışma gruplarında serum üre düzeyleri	32
Şekil 5. Çalışma gruplarında serum kreatinin düzeyleri	32
Şekil 6. Doku katalaz enzim aktivitesi	33
Şekil 7. Doku malonildialdehid (MDA) düzeyleri	34
Şekil 8. Doku süperoksit dismutaz (SOD) düzeyleri	34
Şekil 9. Grup I (kontrol grubu): normal yapıda olan kortikal tübüllerin histolojik görünümü	35
Şekil 10. Grup I (kontrol grubu): normal yapıda olan medüller tübüllerin histolojik görünümü	36
Şekil 11. Grup II (KM grubu): belirgin tübül dilatasyon, tübül epiteli fırçamsı kenarlarında ayrılma ve bozulmalar	37
Şekil 12. Grup II (KM grubu): tübül lezyonlar ve vakuolizasyon	37
Şekil 13. Grup II (KM grubu): medülladaki tübül epitellerinde destrüksiyon, bazal membranlarda kalınlaşmalar ve hyalen birikimleri	38
Şekil 14. Grup II (KM grubu): medüllada iltihabi infiltrasyon	38
Şekil 15. Grup II (KM grubu): medüllada peritübüler fibrotik alanlar ve bu alanlar arasındaki köprüleşmeler	39
Şekil 16. Grup IV (KM+KAL-1 grubu): kortikal tübüllerde orta düzeyde epitel farklılaşması ve hidropik değişiklikler	40
Şekil 17. Grup IV (KM+KAL-1 grubu): medülladaki tübüllerde orta düzeyde epitel farklılaşması	40
Şekil 18. Grup III (KAL-1 grubu): tübül epitellerinde orta düzeyde vakuolizasyon	41
Şekil 19. Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda +1 yaygınlığında TUNEL pozitif hücreler	42
Şekil 20. KM grubuna ait böbrek dokusunda +4 yaygınlığında TUNEL pozitif hücreler	42
Şekil 21. KM+KAL-1 grubuna ait böbrek dokusunda +2 yaygınlığında TUNEL pozitif hücreler	43

KISALTMALAR LİSTESİ

ADE	: Anjiotensin dönüştürücü enzim
CAT	: Katalaz
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DOKM	: Düşük osmolar kontrast madde
FÜDAM	: Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi
GFH	: Glomerüler filtrasyon hızı
H&E	: Hematoksilen Eozin
KM	: Kontrast madde
KMN	: Kontrast madde nefropatisi
KAL-1	: Kalpain inhibitör-1
MDA	: Malondialdehid
MDRD	: Modification of Diet in Renal Disease
NAC	: N-asetilsistein
NO	: Nitrik oksit
NYHA	: New York Heart Association
NSAİİ	: Nonsteroid anti-inflamatuar ilaçlar
PAS	: Periyodik Asit Schiff
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
TUNEL	: TdT-Mediated Nick and Labeling Technique
YOKM	: Yüksek osmolar kontrast madde

1. GİRİŞ

Kontrast maddeler son yıllarda klinik pratikte kullanımı giderek artan ve tanıya gitmede oldukça faydalı olan ajanlardır. Bilim insanlarının gayretli çalışmaları ile günümüzdeki konumlarına ulaşmışlardır ve birçok hasta grubunda güvenle kullanılmaktadırlar (1, 2).

Kontrast maddelerin uygulandıktan sonra tanı için oldukça fazla olan katkıları yanında vücutta istenmeyen etkileri de gözlenebilmektedir. Bu etkilerin bir kısmı ilaç tedavisi gerektirmeyen minör reaksiyonlar iken, bir kısmı medikal destek olmaksızın, engellenemeyen kalıcı hasarlara neden olabilen ciddi komplikasyonlardır. Kontrast madde (KM) nefropatisi, KM kullanımı sonrası görülen kompleks bir akut böbrek yetmezliği sendromu olup hastanede gelişen akut böbrek yetmezliklerinin en sık üçüncü sebebidir (3).

İnsanlarda kontrast madde nefropatisi'nin (KMN) fizyopatolojisi net değildir. Klinik ve deneysel çalışmalarda KM'nin doğrudan toksik etkisi yanında immünolojik hasar ve renal medüller hipoksinin patogeneze sorumlu mekanizmalar olduğu düşünülmektedir (4-6).

Kontrast madde kullanımı gerektiren işlemlerin gün geçtikçe artıyor olması gelecekte muhtemelen bu komplikasyonla daha sık karşılaşacak olan hekimlerin KMN tanısında daha dikkatli, tedavi ve önlenmesinde ise daha bilgili olmaları gerekmektedir. KMN'nin tedavisinin asıl olarak destek tedavisinden oluşması koruyucu önlemleri de bu komplikasyonla mücadelede daha önemli bir yere koymaktadır. KMN'yi önlemede profilaktik olarak sıvı tedavisi ve düşük yoğunluklu KM kullanımı en etkin yöntemler olmakla birlikte asetilsistein, fenoldopam, sodyum bikarbonat, kalsiyum kanal blokerleri gibi birçok farklı ajanlarla ilgili çalışmalar yapılmaktadır (1, 7).

Kalpainler kalsiyum bağımlı sistein-proteazlardır. Bu proteazlar membran bağlantılı regülatör proteinlerden olup hücre büyümesi, farklılaşması ve gelişmesinin regülasyonunda, ve apoptotik hücre ölümünde rol oynarlar. Kalpainlerin beyin, karaciğer, kalp ve böbrek hücrelerinde hipoksik/iskemik hasarın mediyatörleri oldukları gösterilmiş olup, bunların inhibisyonuyla hasarın azaltılabileceği hatta önleyebileceğini destekleyen bulgular saptanmıştır (8, 9).

Kalpain aktivitesini inhibe eden bir dizi sentetik bileşik tasarlanmıştır. Bunlar geçiş-bölgesi inhibitörleri, irreversibl inhibitörler, kalmodulin antagonistleri ve poliaminlerdir (10). Kalpain inhibitör-1 ve kalpain inhibitör-2 peptid aldehit ve keton yapısında olan geçiş bölgesi inhibitörlerindendir. Kalpain inhibitör-1 ile sağlanan kalpain inhibisyonunun ratlarda oluşturulan renal hipoksi modelinde proksimal tübül hücrelerindeki sitoprotektif etkileri gösterilmiştir (11).

Bu çalışmada, fizyopatolojisinin merkezinde renal hipoksi yatan kontrast nefropatisinde kalpain inhibitör-1 ile sağlanan kalpain inhibisyonunun etkilerini araştırmak amaçlanmıştır.

1.1. Kontrast Madde Nefropatisi

1.1.1. Tanım

İntravasküler KM kullanımı sonrası gelişen ve diğer tüm renal yetmezlik nedenlerinin ekarte edildiği akut böbrek yetmezliğine KMN denir. KMN teşhisi için günümüzde en çok kullanılan tanımlama, KM kullanımı sonrası 48-72 saat içinde, başka bir etiyolojik sebep olmaksızın, serum kreatinin değerinde 0.5 mg/dl (44.2 umol/mL) veya bazale göre % 25' den fazla artış olmasıdır. Tipik olarak serum kreatinin değeri kontrast madde verildikten 24-72 saat sonra yükselmeye başlar, 3.-5. Günlerde en yüksek seviyeye ulaşır ve 7.-10. günlerde normal değerine iner (1, 12, 13).

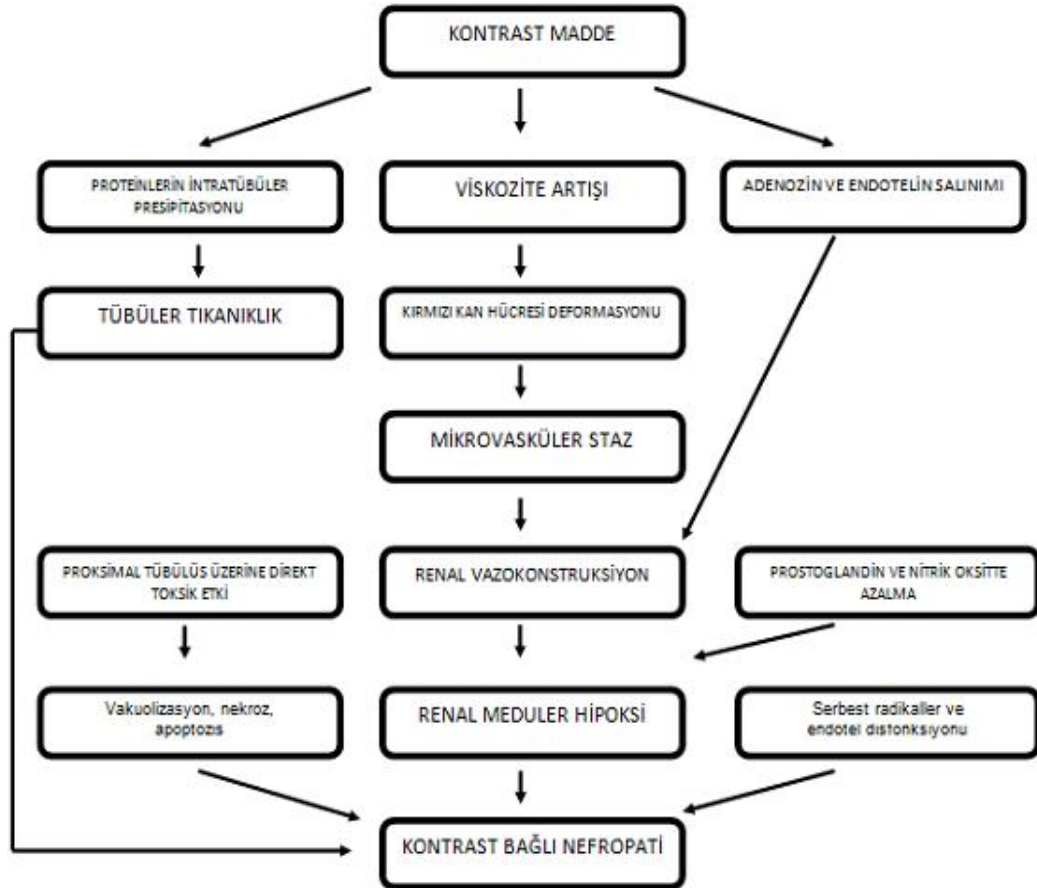
1.1.2. İnsidans

Kontrast madde nefropatisinin insidansı tam olarak bilinmemektedir. Yapılan çalışmalarda böbrek yetersizliğinin tanımlanması veya hasta seçimi gibi çalışma düzenlerindeki farklılıklar nedeniyle KMN insidansı %0 ile %23 arasında oldukça değişkenlik göstermektedir (14-16). Rihal ve ark. (14) perkütan koroner girişim nedeniyle KM uygulanan 7586 hasta üzerinde yaptıkları retrospektif bir çalışmada, hastaların % 3.3'ünde KMN geliştiğini, KMN saptananların hastane ölüm oranlarının ise % 22 olduğunu ve KMN gelişip de sağ kalan hastalar için de 1 yıl ve 5 yıl sonraki mortalite oranları sırasıyla % 12,1 ve % 44,6 olduğunu saptamışlardır. Nash ve ark. (17) 4622 hasta üzerinde yaptıkları bir çalışmada hastanede kazanılmış böbrek yetmezliğinin en sık 3. nedeninin %11'lik oranla KMN olduğunu ve bunun artmış mortalite ve morbidite hızıyla ilişkili olduğunu göstermişlerdir.

Genel popülasyonda KMN insidansı düşükken, seçilmiş gruplarda yüksek olabilir. Renal yetmezlik, diabetes mellitus, ileri yaş, konjestif kalp yetmezliği veya nefrotoksik ilaç kullanımı gibi risk faktörleri olan hastalarda KMN insidansı risk faktörü sayısı ile doğru orantılı olarak artmaktadır. Risk faktörü taşımayanlarda KMN insidansı %3-5 iken, dört risk faktörü olanlarda KMN insidansının %100'e kadar çıkabileceği bildirilmiştir (15, 18, 19).

1.1.3. Kontrast Maddeye Bağlı Nefrotoksisite Mekanizmaları

İnsanlarda KM uygulanmasının hangi mekanizma ile böbrek hasarına neden olduğu henüz tam olarak anlaşılamamıştır (16). Pek çok faktörün karşılıklı etkileşiminin patogeneizde rol oynadığı düşünülmektedir. Yapılan çalışmalar sonucunda KMN gelişiminde rolü olduğu düşünülen mekanizmalar Şekil 1' de özetlenmiştir (20). KM'lerin renal tübül hücreleri üzerine olan doğrudan toksik etkileri ve renal medüller hipoksi KMN oluşmasında suçlanan en önemli patofizyolojik mekanizmalardır (5, 20).



Şekil 1. Kontrast maddeye bağlı nefrotoksisite mekanizmaları (20)

1.1.3.1. Renal Hemodinamik Değişiklikler

Hayvanlarda yapılan çalışmalarda kontrast uygulama sonrası bifazik bir hemodinamik cevabın ortaya çıktığı gösterilmiştir. Morris ve ark. (21) konuyla ilgili yaptıkları çalışmalarında KM'nin intraarteryel uygulaması sonrasında ilk olarak vazodilatasyonun ortaya çıktığını ve bunu uzamış bir vazokonstriksiyon fazının takip ettiğini gözlemlemişlerdir. Benzer şekilde Bakris ve ark. (22) köpekler ile yaptıkları deneylerinde KM'nin intraarteryel infüzyonunun başlangıçta kan akımında kısa süreli bir artışa sebep olduğunu ve bunun renal vasküler yapıda uzamış (3 saat) vazokonstriksiyon ile sonlandığını göstermişlerdir. Bu vazokonstriksiyonun mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte araştırmacılar vazokonstriktif fazda kalsiyum akışının önemini göstermişlerdir. Aynı çalışmada kontrast maruziyetinden önce T tipi kalsiyum kanal blokerleri (diltiazem veya verapamil gibi) veya bir kalsiyum şelatörü olan etilenglikol tetra asetik asit ile tedavi edilenlerde vazokonstriksiyonun belirgin olarak azaldığı gösterilmiştir.

Takip eden çalışmalarda renal kan akımındaki azalmanın tek düze olmadığı ve KM'nin böbrek içinde bölgesel etkileri olduğu bulunmuştur. Normal koşullarda renal medüllerin oksijenizasyonu zayıf olduğu için hipoksik hasara duyarlıdır. Kortekste 50 mmHg olan oksijen basıncı medüllada 10-20 mmHg'dır (23). Oksijen basıncının düşük olması, vasa rekta ile henlenin çıkan kolunda sodyumun aktif transportu sırasında oksijenin kullanımına bağlıdır (24). Yapılan bir çalışmada, iohexol infüzyonu ile renal korteksteki kan akımı %20'ye kadar arttırılırken aynı anda dış medülladaki kan akımının %40'a kadar azalmakta olduğu işaretli eritrositler kullanılarak gösterilmiştir. Sonuçta renal kan akımı medülladan kortekse yönelmekte ve bu etki ile (çalma fenomeni) 'seçici renal medüller iskemi' gelişmektedir (25). Liss ve ark. (26) sağlıklı ratlara KM enjeksiyonu sonrası gelişen medüller kan akımındaki azalmanın oksijen tüketimindeki %60'lık azalma ile beraber olduğunu göstermişlerdir. Bu dış medüller kan akımındaki seçici azalma ve ortaya çıkan hipoksi, KMN'deki histopatolojik bulgulara katkıda bulunuyor olabilir. Heyman ve ark. (23, 27) yaptıkları çalışmalarda tuz kısıtlaması yapılan ratlarda KM enjeksiyonu sonrası gelişen nekrotik değişikliklerin medüller bölgedeki henlenin kalın çıkan kolunda ve proksimal tübülün S₃ segmentinde diğer bölgelere göre daha fazla olduğu saptanmıştır. Dış medülladaki oksijen düzeyi medüller kan akımına ve metabolik

ihtiyaca göre değiştiği için KM'nin medüller oksijenasyon ve bunun sonucu ortaya çıkan nefrotoksisite üzerine olan etkileri, kişiler arasında büyük farklılıklar gösterecektir. Diyabetes mellitusta KM'nin medüller kan akımı üzerine olan etkileri çok daha belirgin olmaktadır. Örneğin, Palm ve ark. (28) streptozosin ile diabetes mellitus oluşturulan sıçanlarda KM enjeksiyonu ile medüller kan akımında azalma olduğunu ancak normal hayvanlarda bu azalmanın olmadığını göstermişlerdir.

Çeşitli araştırmalarda çok sayıda vazoaaktif maddenin, KM'nin neden olduğu renal vazokonstriksiyon ile ilgili olduğu ileri sürülmüştür (29, 30). KMN'deki hemodinamik değişikliklerden sorumlu tutulan vazoaaktif maddelerden bazıları, atriyal natriüretik peptit, adenozin, endotelin, vazopressin, nitrik oksit, noradrenalin ve anđiotensindir. Endotelin-1, 21 aminoasitli bir peptit olup renal fonksiyonları düzenler ve renal vasküler rezistansın artışıyla karakterize çeşitli renal hastalıkların patogenezinde rol oynar. Endotelinin etkisi endotelin-reseptör subtiplerinin aktivasyonuna bağlı olarak değişmektedir. Endotelin-A reseptörü esas olarak vazokonstrüktör etki yaparken, endotelin-B reseptörü vazodilatatör etki göstermektedir (31). Endotelin-A selektif blokerlerinin kullanıldığı bir rat çalışmasında, KM'nin yol açtığı, renal dış medüller hipoksik etkinin endotelin etkisinin inhibe edilmesi ile düzeldiği bildirilmektedir (32). Öte yandan Wang ve ark. (33) yaptıkları klinik bir çalışmada ise endotelin-A ve endotelin-B kombine blokeri (bosentan) alan insanlarda KMN insidansının plasebo grubuna göre anlamlı derecede arttığı göstermişlerdir.

Yapılan çalışmalarda adenozin reseptör antagonisti teofilinin KM'nin neden olduğu glomerüler filtrasyon hızı ve renal kan akımındaki düşüşü azalttığı, adenozin "uptake" inhibitörü olan dipiridamoln KM'nin neden olduğu vazokonstriksiyonu potansiyalize ettiği gösterilmiştir (34). Adenozin, A2 stimülasyonu ile efferent arteriolde ve medüller kapillerlerde vazodilatasyona, A1 stimülasyonu ile de afferent arteriolde vazokonstriksiyona yol açar ve renal vazokonstrüksiyonu baskın hale getirir. Bu durum intrarenal adenosin infüzyonu sonrası renal kan akımının azalmasının nedenini açıklar (35).

Nitrik oksit (NO) L-arginine'den NO sentetaz enzimi tarafından sentezlenen güçlü bir vazodilatördür. NO, glomerüler ve medüller hemodinamiklerin regülasyonu, tübüloglomerüler feedback, renin salınımı ve ekstraselüler sıvı volümü

regülasyonu ile yakından ilişkilidir. NO sentez inhibitörü olan L-Nitro-L-Arjinin Metil Ester'in, NO miktarını azaltmak suretiyle vazodilatasyon yanıtının oluşmasını engelleyerek renal vazokonstriksiyona neden olduğu ve kan basıncını arttırıp, renal kan akımını azalttığı ve medüller oksijen basıncını anlamlı olarak düşürdüğü gözlemlenmiştir. Ribeiro ve ark. (36) farklı KM'lerin NO üretimi üzerindeki etkilerini in vitro olarak araştırmışlar ve NO üretimindeki azalmanın KM'nin osmolaritesi ile orantılı olduğunu bulmuşlardır. Ratlarda KM verilmeden önce NO sentez inhibitörü verilmesinin KM'nin nefrotoksik etkilerini potansiyalize ettiği ve NO'nun fizyolojik perküsörü L-arginin ile bu etkilerin tersine çevrildiği gösterilmiştir (37-39).

1.1.3.2. Osmolalitenin Rolü

Sıvıların osmolalitesini içerdikleri partikül sayısı belirler. Yarı geçirgen bir zarla ayrılmış iki farklı osmolalitede olan sıvıdan, hipoosmolar olanı, karşı tarafa sıvı verirken, hiperosmolar olan sıvı, karşı taraftan su çeker. Bu durum KM'lere bağlı ortaya çıkan bazı istenmeyen etkilerin temelini oluşturmaktadır. 1500 mOsm/kg'ın üzerinde osmolalitesi olan KM'ler yüksek osmolar, 550-850 mOsm/kg olanlar düşük osmolar ve plazmaya daha yakın osmolalitede olanlar ise izoosmolar olarak kabul edilmektedir. Çeşitli klinik çalışmalar ve deneysel gözlemler KM'nin hiperosmolalitesinin KMN patogenezinde rol oynadığını desteklemektedir (40, 41). Toplam 31 çalışmanın metaanalizinde, düşük osmolar kontrast maddenin (DOKM) yüksek osmolar kontrast maddeye (YOKM) göre daha düşük nefropati riskiyle beraber olduğu gösterilmiştir (42). Hiperosmolalitenin tübüloglomerüler sıvı reabsorbsiyonunu arttırarak ya da tübüler hidrostatik basınçta artışa yol açarak glomerüler filtrasyon hızında düşüşe yol açmakta ve oluşturduğu osmotik diürez nedeniyle henlenin çıkan kalın kolunda sodyumun aktif transportunu arttırarak oksijen ihtiyacını arttırmakta ve vazokonstrüksiyonu sağlayarak medüller hipoksemiye daha da kötüleştirdiği düşünülmektedir (23, 40, 43).

1.1.3.3. Direkt Toksik Etkiler, Oksidatif Stres ve Apoptozis

Kontrast madde nefropatisi gelişiminde rolü olduğu öne sürülen mekanizmalardan biri KM'nin böbrek tübüllerinde yaptığı direkt toksik etkidir. Çeşitli deneysel çalışmalarda KM enjeksiyonu sonrası saptanan epitelyal hücre vakuolizasyonu, intestisyel inflamasyon, hücresel nekroz gibi patolojik değişiklikler

ve enzimüri KM'lerin renal tübüler epitelyal hücreler üzerine doğrudan toksik etkilerinin olduğunu düşündürmektedir (44-46). En sık gözlenen histopatolojik özellik proksimal tübüllerdeki ciddi fokal veya diffüz vakuolizasyon veya tübüler nekrozdur. Renal dokunun yüksek osmolar yüke maruz kalması 'osmotik nefrozis' adında karakteristik histopatolojik değişikliklere neden olur (45).

Moreau ve ark. (45) KM maruziyeti sonrasında 10 gün içinde renal biyopsinin yapıldığı 211 hasta üzerinde yaptıkları çalışmalarında 47 hastada osmotik nefrozis, 29 hastada tübüler atrofi ve/veya nekroz geliştiğini tespit etmişlerdir. Fakat serum kreatinin düzeyindeki değişim ile osmotik nefrozisin ciddiyeti arasında bir ilişki saptayamamışlardır. Farklı çalışmalarda KM uygulamasıyla tübüler sistemde lokalize olan lizozomal N-asetil-β-D-glukozaminidaz, laktat dehidrojenaz, L-gamaglutamil transferaz, alkalen fosfataz, alaninaminopeptidaz gibi enzimlerin ve β₂ mikroglobülinin idrarla eksresyonlarının arttığı gözlemlenmiştir (46-49).

Kontrast maddelerin böbreğe olan doğrudan toksik etkilerinin oluşmasındaki en önemli mediatörlerden birisinin serbest oksijen radikalleri (SOR) olduğuna dair anlamlı bulgular vardır (29, 50). SOR için bir çok tanım yapılmasına rağmen otoritelerin üzerinde birleştiği tanım; bir serbest radikalın moleküler ya da atomik yörüngesinde bulunan ve genelde çok reaktif olan çiftleşmemiş elektron bulunduran bir kimyasal ürün olduğu şeklindedir. Her ne kadar serbest radikal reaksiyonları, bağışıklık sistemi hücrelerinden nötrofil, makrofaj gibi hücrelerin savunma mekanizması için gerekli olsa da, serbest radikallerin fazla üretimi doku hasarı ve hücre ölümü ile sonuçlanmaktadır (51, 52). Organizmada SOR üretim hızı ile ortadan kaldırılması bir denge halindedir ve bu duruma *oksidatif denge* adı verilmektedir. "*Oksidatif Stres*" olarak adlandırılan durumda; serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma sistemi arasında ciddi dengesizlik oluşmakta, bu durum doku hasarı ile sonuçlanmaktadır (53). Yaşla birlikte oksidan hasara karşı koyabilme yeteneğinin azalması yaşlı hastalarda KMN gelişiminin sık görülmesine katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Ayrıca KMN insidansının daha yüksek olduğu diabetes mellitus ve renal yetmezlik durumlarında da oksidatif stres artmıştır (54, 55).

Kontrast madde maruziyeti sonrası gelişen ciddi vazokonstriksiyon ve otoregülasyondaki bozulma sonucu ortaya çıkan postiskemik oksidatif stres renal endotelial hücrelerde lipid peroksidasyonu, protein hasarı gibi etkilerle KMN

patogenezinde rol oynamaktadır. Deneysel hayvan modellerinde KM uygulaması sonrasında lipid peroksidasyonunun bir sonucu olan malondialdehid (MDA) düzeylerinin arttığı ve renal kortekste süperoksid dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) gibi antioksidan enzim aktivitelerinde azalma saptanmıştır (50, 56). Ayrıca ekstrasellüler sinyal molekülleri olan SOR'lar KMN gelişmesinde önemli olduğu düşünülen çeşitli vazokonstriktörlerin (anjiotensin II, tromboksan A2, endotelin-1, adenozin ve norepinefrin gibi) etkilerinde de rol oynayabilirler.

Bazı çalışmalarda KM uygulaması sonrası apoptozisin arttığına dair bulgular vardır. *In vitro* olarak böbrek hücre kültüründe KM'nin etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada renal epitelyal hücrelerde normooksik durumlarda bile diatrizoatla konsantrasyon ve süre bağımlı olarak DNA fragmentasyonunu gözlenmiştir (57). Yapılan başka çalışmalarda da KM toksisitesine bağlı apoptozis bulguları saptanmıştır (6, 58). Hizoh ve Haller (58) tarafından yapılan bir çalışmada KM uygulaması sonrası apoptoziste artış olduğu gösterilmiştir. Araştırmacılar bunun olası mekanizmasının KM'nin yüksek osmolalitesi olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca bu çalışmada antioksidan ajanlar olan asetilsistein ve taurinin apoptozis üzerine olan etkileri araştırılmış olup sadece taurinin apoptozisi azalttığı gözlemlenmiştir. Katholi ve ark. (6) yaptıkları çalışmalarında yüksek osmolar bir KM olan diazoksitin böbrek epitelyal DNA fragmentasyonuna sebep olduğunu göstermişlerdir. Bununla birlikte, bu etkiyi mannitol ve sodyum klorür gibi diğer yüksek osmolar maddelerin de yaptığı gösterilmiştir. Son yıllarda yapılan başka bir çalışmada hem izoosmolar hem de düşük osmolar KM'lerin de doz bağımlı olarak renal apoptozisi arttırdıkları ve asetilsistein ve askorbik asidin apoptozisi azalttığı sodyum bikarbonatın ise apoptozis üzerine etkisi olmadığı saptanmıştır (59).

1.1.3.4. Diğer Etkiler

Kontrast maddeye bağlı nefrotoksisitenin patogenezinde rol aldığı düşünülen bir diğer mekanizma da tübüler obstrüksiyondur. KM'ler iki farklı mekanizma ile tübüler obstrüksiyona neden olur. İlki KM'ler ürik asit atılımını artırarak, urat presipitatlarının oluşmasına neden olur. Bu presipitatlar tübüler obstrüksiyona, dolayısıyla tübüler hasara neden olabilir. İkinci mekanizma ise KM'lerin renal tübülüslerde obstrüksiyona neden olan Tamm-Horsfall proteinlerinin agregasyonunu

arttırmasıdır (60). Bu iddia özellikle multipl miyelom hastalarında önem kazanmaktadır (61).

Birçok çalışmada KMN'nin immün mekanizmalarla oluşabileceği gösterilmiştir. KM verilmesinden sonra kompleman sisteminin alternatif yolla aktive olduğu ve aktive olması ile mezengiyumda nötrofil ve makrofajların stimülasyonuna neden olduğu gösterilmiştir. Bu hücrelerin böbrek parankimine infiltrasyonunun SOR oluşumunu arttırmak suretiyle KMN gelişiminde rol alabileceği öne sürülmüştür (62).

Bazı rat çalışmalarında KM'lerin hipertonic etkisi ile eritrositlerde membran deformitesine yol açtığı böylece mikrovasküler staza neden olduğu ve bu etkilerinin medüller hipoksiyi derinleştirerek KMN gelişimine katkısı olabileceği gösterilmiştir (26).

1.1.4. Risk Faktörleri

Kontrast madde nefropatisinin insidansı bulunan risk faktörü sayısı ile doğru orantılı olarak arttığından KMN gelişmesini engellemek için yüksek riskli hastaların doğru bir şekilde belirlenmesi ve önlemlerin erkenden alınması gerekmektedir. Tablo 1'de KMN gelişiminde rolü olduğu düşünülen bazı risk faktörleri gösterilmiştir (7).

1.1.4.1. Önceden Var Olan Renal Bozukluk

Kontrast nefropati gelişimi için önceden var olan böbrek yetersizliği en önemli risk faktörlerinden biridir. Glomerüler filtrasyon hızı'nın (GFH) < 60 ml/dk/1.73m² olması majör risk faktörüdür ve bu gruptaki hastalara özellikle dikkat edilmesi gerekir (63). Renal fonksiyonları yetersiz olan hastalarda KM'nin vücuttan uzaklaştırılmasındaki gecikme nedeniyle KM'nin toksik etkilerine daha uzun süre maruz kalmaları ve bu grup hastalardaki artmış oksidatif stres KMN insidansının daha yüksek olmasının nedeni olabilir. KMN gelişim sıklığı renal bozukluğun derecesi ile doğru orantılı olarak artmakta olup yapılan bir çalışmada bazal kreatinin seviyeleri 2,5-2,9 mg/dl olan gruptaki KMN insidansı, bazal kreatinin seviyeleri 1,5-1,9 mg/dl olan gruptan 5 kat daha yüksek olarak bildirilmiştir (64). Koroner anjiyografi yapılan hastaların dahil edildiği prospektif olarak yapılan bir çok çalışmada önceden var olan renal bozukluk KMN gelişimi için en önemli risk faktörü olarak saptanmıştır (14, 65, 66).

Tablo 1. Kontrast ilişkili nefropati için risk faktörleri

KONTRAST İLİŞKİLİ NEFROPATI İÇİN RİSK FAKTÖRLERİ

KESİN RİSK FAKTÖRLERİ

Diabetes mellitus ve böbrek yetmezliği tablolarının bir arada olması

Daha önceden böbrek yetmezliği tanısı olması (Serum kreatinin seviyesinin >1.2 mg/dl olması ya da GFH<60 ml/dk olması)

Kalp yetmezliği (NYHA evrelemesinde; evre 3 - 4 kalp yetmezliği veya ejeksiyon fraksiyonunun % 50'nin altında olması)

Hipotansiyon ve kardiyojenik şok

YOKM kullanılması

125 cc üzerinde KM kullanılması ve 72 saat içinde ikinci defa KM kullanılması

İleri yaş

Eş zamanlı nefrotoksik ajan kullanılması

OLASILIK RİSK FAKTÖRLERİ

Böbrek fonksiyonlarının bozuk olmadığı halde diabetes mellitus tanısı olması

Periferik arter hastalığı

Hipertansiyon

Hiperürisemi

Karaciğer yetmezliği

Nefrotik sendrom

Anemi

Multiple miyelom

Akut miyokard infarktüsü

Hiperlipidemi

1.1.4.2. Yaş

Hasta yaşı yapılan birçok araştırmada KMN gelişimi için risk faktörü olarak gösterilmiştir. Bunun yaşla birlikte bozulan böbrek fonksiyonlarıyla ilişkisi olacağı gibi bazı araştırmalarda da ileri yaşın bağımsız bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir (14, 63, 67-69). Yaşla birlikte oksidan hasara karşı koyabilme yeteneğinde azalma, böbrek ve endotel fonksiyonlarında bozulma KMN riskinin nedenleri olabilir (70).

1.1.4.3. Diabetes Mellitus

Çok değişkenli varyasyon analizleriyle yapılan çalışmalarda diabetes mellitusun KMN gelişimi için bağımsız risk faktörü olduğu saptanmıştır (63, 71-73). Diabetes mellitus KMN gelişimi için önemli bir risk faktörü olmasına karşın diyabetik hastaların çoğunda birlikte renal yetmezlik tablosunun olması dikkat

çekicidir. Diyabetik hastalarda birlikte nefropati bulunup bulunmamasına bağlı olarak KMN insidansı değişmektedir. Diyabet ve renal bozukluğunun bir arada bulunduğu hasta grubu KMN gelişimi için en yüksek riske sahip gruptur (72). Diyabetik hastalarda böbrek fonksiyonlarına bağlı olarak KMN insidansı %5-30 arasında değiştiği bilinmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda normal renal fonksiyonlara sahip diyabetik hastalarla normal renal fonksiyonlara sahip diyabetik olmayan hastalar arasında KMN gelişime riski açısından anlamlı fark gözlenmemiştir (74). Her ne kadar normal renal fonksiyonlu diyabetik hastalarda KMN riskinde belirgin bir artış saptanmasa da bu hasta grubunda oksidatif stresin artması, endotel fonksiyonunun bozulması, endotelin-1 ve anjiotensin-1 düzeylerinin artması ve NO bağımlı renal vazodilatasyonun bozulması gibi diabetes mellitusta görülen vasküler değişikliklerin KMN gelişimi için predispoze olabileceği öne sürülmüştür (74).

1.1.4.4. Kalp Yetmezliği

Kontrast madde nefropatisi insidansının ve risk faktörlerinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalarda kalp yetmezliğinin KMN gelişimi için artmış riskle ilişkili olduğu gösterilmiştir. New York Heart Association (NYHA) evrelemesine göre evre 3-4 olan hastalarda özellikle ejeksiyon fraksiyonu % 50'nin altında ise hastaların kardiyak performansları bozulduğu gibi, renal perfüzyonları da bozulmaktadır. Renal kan akımında meydana gelen azalma ve kalp yetmezliğine bağlı artan oksidatif stresin bu hasta grubundaki KMN risk artışının nedenleri olduğu düşünülmektedir (68, 71, 72, 75).

1.1.4.5. Hipotansiyon ve Hipertansiyon

Kontrast madde uygulanması esnasında gelişen ya da öncesinde olan hipotansiyon KMN için risk faktörüdür (39, 67, 72, 76). Efektif dolaşım volümünün azalması ile bozulan renal perfüzyon sonrasında gelişen GFH'deki düşüş KM'nin toksik etkilerini arttırmaktadır. Nefrotik sendrom, kalp yetmezliği, siroz, dehidratasyon gibi herhangi bir nedenle gelişen hipotansiyon bu grup içerisine girmektedir. Hayvan deneylerinde hipertansiyonun KMN gelişimine katkıda bulunduğunun gösterilmesine rağmen KMN için bağımsız bir risk faktörü olduğuna dair yeterli klinik çalışma bulunmamaktadır (77).

1.1.4.6. Anemi ve İmmunglobülinopatiler

Düşük hemoglobin düzeyleri medüller hipoksiyi şiddetlendirerek KMN riskini arttırıyor olabilir. Nitekim bazı çalışmalarda anemili hastalarda KMN insidansı normal hematokrit düzeyine sahip olanlara göre daha yüksek saptanmıştır (63, 72). Multiple miyelom gibi immunglobülinopatiler KMN gelişimi açısından dikkate alınması gereken risk faktörleridir. Bu grup hastalarda vaka düzeyinde KMN geliştiğini bildiren yayınlar vardır (61). Ancak retrospektif olarak yapılmış 476 multiple miyelom hastasının incelendiği bir araştırmada, KMN insidansı %0.6-1.25 saptanmış olup genel popülasyona göre anlamlı olarak farklı olmadığı gösterilmiştir (78).

1.1.4.7. Nefrotoksik İlaçlar

Nefrotoksik potansiyeli olan nonsteroid anti-inflamatuvar ilaçlar (NSAİİ), sisplatin, aminoglikozitler, takrolimus, anjiotensin dönüştürücü enzim (ADE) inhibitörleri, furosemid, metotreksat, amfoterisin B, siklosporin ve vankomisin gibi ilaçların KMN riskini arttırabileceği saptanmıştır (79, 80). Ancak klinik pratikte oldukça sık kullanılan ADE inhibitörleri hakkında farklı veriler mevcuttur. ADE inhibitörleri efferent arteriolde vazodilatasyonla glomerül içi basıncı düşürür. KMN patogenezinde rol alan norepinefrin, vazopressin, endotelin ve anjiyotensin gibi vazokonstriktör ajanların üretimi baskılanır ve bradikininin parçalanması bloke edilip nitrik oksit sentezi artar. Bu da vazokonstriksiyona engel olur ve böbrek medüllasının kan akımı arttırır. Bu etkileriyle KMN gelişiminde önemli bir faktör olan böbrekteki medüller iskeminin gelişmesini önleyerek KMN'yi bir anlamda engelleyebileceğini düşünen araştırmacılar vardır (81, 82). Bununla birlikte ADE inhibitörü kullanımının riski arttırdığını gösteren çalışmalar da vardır (83). Toprak ve ark. (84) tarafından yapılan bir çalışmada, kaptopril kullanımının diyabetik hastalarda KMN insidansını azalttığı ancak diyabetik olmayan hasta grubunda arttırdığı saptanmıştır. ADE inhibitörü kullanan hastalarda KMN riski konusunda daha büyük çalışmalara ihtiyaç vardır. Rosenstock ve ark. (85) ADE inhibitörleri ve anjiotensin reseptör blokerleri ile yaptıkları çalışmalarda, bu ilaçların KM uygulamasından önce kesilmesinin KMN insidansı üzerine bir etkisi olmadığını göstermişlerdir. Araştırmacılar, KM verilmesi planlanan ve ADE inhibitörü veya

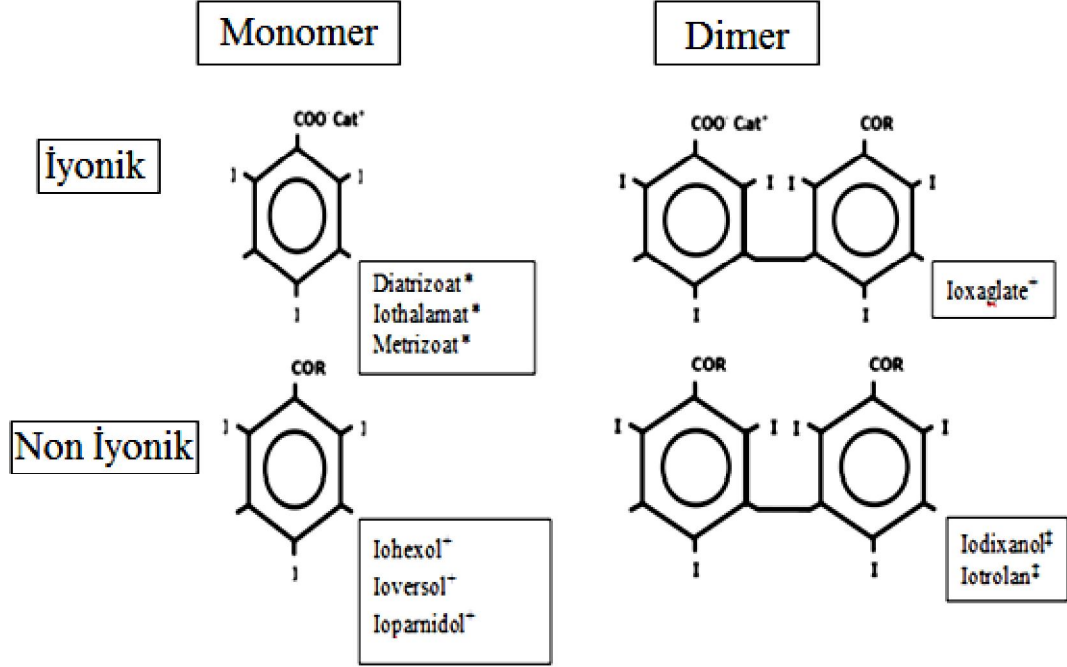
anjiotensin reseptör blokleri kullanan hasta grubunun daha yakından takip edilmesi gerektiğini belirtmektedirler.

1.1.4.8. Kontrast Madde

Kontrast maddeleri pozitif KM'ler (ağır metal tuzları (baryumlu KM'ler) ve iyotlu bileşikler) ve negatif KM'ler (hava, oksijen, karbondioksit gibi ajanlar) olmak üzere ikiye ayırabiliriz. Baryumlu ajanlar inert olup, gastrointestinal kanalın görüntülenmesinde kullanılmaktadır. İyotlu bileşikler suda çözünen (triiodobenzoik asit) ve yağlı, suda çözünmeyen (di-iyodopiridin) olarak iki gruba ayrılabilir. Suda çözünenler ise kendi içinde iyonik ve iyonik olmayan şekilde iki alt gruba daha ayrılır. Bu iki grup da kimyasal formülasyonuna göre mono ve dimerik olarak sınıflandırılabilirler. Ek olarak iyotlu KM'ler osmolalitelere göre yüksek, düşük ve izosmolar şekilde üç grupta incelenebilir (86). Suda çözünen KM'lerin genel özellikleri şekil 2'de verilmiştir. İyotlu KM ile böbrek yetmezliği arasındaki ilişki ilk olarak yaklaşık 50 yıl önce iodopyracet ile bildirilmiştir (87). KM'nin yapısı, iyon yükü ve konsantrasyonu hücre hasarındaki önemli etkenlerdir. Osmolalite ise KMN gelişiminde KM'ye ait en önemli özellik olarak gözükmektedir. Nitekim YOKM'lerde KMN oluşma riski daha fazladır. Harris ve ark. (88) iyonik olmayan DOKM kullanımı sonrası KMN riskinin %2, YOKM kullanımı sonrası ise %14 olduğunu göstermişlerdir. KMN insidansının incelendiği toplam 31 çalışmanın metaanalizinde, YOKM'nin DOKM'ye göre artmış nefropati riskiyle beraber olduğu gösterilmiştir (42). Buna ek olarak izosmolar KM olan iodixanol ile DOKM olan iohexol karşılaştırıldığında DOKM ile KMN insidansının daha düşük olduğu gösterilmiştir (87, 89).

Uygulanan KM miktarı ile KMN sıklığı arasında korelasyon vardır. Kontrast volümü, modifiye edilebilir risk faktörlerindedir. Yapılan çalışmalarda koroner anjiyografi yapılan hastalara verilen her 100ml KM miktarının, nefrotoksisite gelişme riskini %12 artırdığı saptanmıştır (90).

KONTRAST MADDELER



*YOKM (1500-2000 mOsm/kg) +DOKM (600-1000 mOsm/kg) ‡ İzoosmolar KM (290 mOsm/kg)

Şekil 2. Suda çözünen kontrast maddelerin özellikleri

Çıgarroa ve ark. (91) koroner anjiyografiye giden hastalarda vücut ağırlığı ve bazal renal fonksiyonu esas alan bir formül (5ml x ağırlık/ (serum kreatinin düzeyi (mg/dl))) kullanarak düzeltilmiş maksimum KM miktarını belirlemiş ve bu miktarı aşan hastaların %21'inde, miktarın altında KM verilen hastaların ise sadece %2'sinde nefropati geliştiğini gözlemlemişlerdir. Bir çalışmada düzeltilmiş KM volümünden daha fazla kontrast kullanılan hastalarda diyaliz gerektiren KMN riskinin 6.2 kat daha fazla olduğu bulunmuştur (87). Başka bir çalışmada hastaya ek olarak verilen her 100 ml'lik KM'nin nefropati riskini %30 kadar arttırdığı gösterilmiştir (92).

Tekrarlayan KM kullanımının da KMN riskini arttırdığı gösterilmiştir. Özellikle 72 saat içinde tekrar KM kullanımının nefropati riskini artırır. Mümkünse ikinci kontrastın 2 haftadan önce uygulanmaması önerilir (73).

1.1.5. Klinik Özellikler

Kontrast madde nefropatisinin spesifik bir tanısal belirleyicisi olmamasına rağmen halen en çok kabul gören ve ekonomik tanı yöntemi KM verildikten 24-48

saat sonra serum kreatinin değerlerinin ölçümüdür. Yüksek riskli hastaların % 60'ında serum kreatinini ilk 24 saat içinde yükselir, 4 veya 5. günde pik serum kreatinin düzeyine ulaşır ve genellikle 7. veya 10. günde bazal düzeye dönebilir (1, 12). Böbrek yetmezliği oligürük veya nonoligürük olabilir. Oligüri genellikle potent loop diüretiklerine dirençlidir. KMN'ye bağlı akut böbrek yetmezliği genellikle nonoligürük ve asemptomatiktir (29). Fraksiyonel sodyum atılımı tübüler fonksiyonun göstergelerinden biridir ve oligürük hastalarda %1'in altındadır. Bu özelliği ile prerenal azoteminin akut tübüler nekrozundan ayırt edilir.

Kontrast nefropati tanısında N-asetil- β -D-glukozaminidaz, gamaglutamil transferaz, alkalen fosfataz, 3-nitrotirozin, β_2 mikroglobülin, albuminüri ve proteinüri gibi çeşitli üriner enzimler ile tübüler ve glomerüler fonksiyonun göstergeleri araştırılmıştır. Sonuçta bu göstergelerin sınırlı klinik değeri olduğu sonucuna varılmıştır. Ancak bu göstergelerin araştırmalarda kullanılmasının, gelecekte KMN'nin teşhis ve tedavisinde amaçlanan hedeflere ulaşılmasında faydalı olabileceği düşünölmektedir. Belirgin risk faktörü olmayan ancak KM uygulaması sonrası akut böbrek yetmezliği gelişen hastalarda diğer akut böbrek yetmezliği nedenleri ayırıcı tanıda mutlaka düşünölmelidir. KM uygulaması sonrası nefropati gelişen çoğu hastada spontan iyileşme olur. Nadiren renal yetmezlik irreversibl olur ve renal replasman tedavileri gerekebilir.

Rihal ve ark. (14) yaptıkları retrospektif bir çalışmada KMN gelişen hastalarda hastane içi mortalite %22 bulunmuştur. Bu oran KMN gelişmeyenlerde sadece %1,4 olarak saptanmıştır. KMN gelişen ve hastaneden sağ olarak çıkan hastaların 1. ve 5. yılda mortalite oranları sırasıyla %12,1 ve %44,6 olduğu gösterilmiştir. Yapılan başka bir araştırmada KMN gelişenlerde hastanede yatışları boyunca mortalite oranı %34 olarak bulunurken nefropati gelişmeyenlerde bu oran %7 olarak bulunmuştur. Diğer yandaş hastalıklarına göre düzeltme yapıldıktan sonra KMN gelişenlerde ölüm riskinin 5,5 kat daha yüksek olduğu bulunmuştur (73). Bu oranlar direkt olarak KM kullanımına bağlı prognozu yansıtmasa da bu hasta grubunda akut renal yetersizliğin gelişiminde önemli bir etken olan KMN'nin önlenmesinin prognozunu iyileştirilmesinde önemli bir faktör olacağı göz önünde bulundurulmalıdır.

1.1.6. Kontrast Madde Nefropatisinin Engellenmesi

Kontrast madde nefropatisinin halen spesifik bir tedavisi yoktur. Özellikle KMN açısından hasta riskinin belirlenmesi ve yüksek riskli hastalarda serum kreatinin düzeylerinin KM öncesi ve sonrası izlenmesi öncelikle gereken uygulamadır. GFH, Cockcroft-Gault formülü ile ya da Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) formülü kullanılarak hesaplanmalıdır. KMN gelişimi açısından yüksek riskli hastaları belirleyebilmek için birbirinden modifiye edilmiş risk skorlama yöntemleri oluşturulmuştur. Mehran ve ark. (63) perkütan koroner girişimden sonra ortaya çıkabilecek KMN riskini skorlama yöntemi tablo 2’de gösterilmiştir. KMN gelişmesini önlemeye yönelik çok sayıda deneysel ve klinik çalışma yapılmıştır. KMN patogenezinde rol oynayan faktörlerden yola çıkılarak, koruyucu etkisi olabilecek birçok farklı ajan ve yöntem gerek klinik gerek prelinik çalışmalarla araştırılmıştır.

1.1.6.1. Hidrasyon

Yüksek riskli hastalarda işlem öncesi ekstraselüler volümün artırılması pratikte en sık kullanılan uygulama olup, KMN proflaksisinde etkili olduğu konusunda birçok bilim insanının birleştiği tek yöntemdir (1, 93, 94). Teorik olarak hidrasyon, renin anjiyotensin sisteminin aktivitesini azaltır, endotelin gibi vazokonstriktör olan ajanların seviyesini düşürür, sodyum diürezini artırır, KM’nin tübülde dilüe olmasını sağlayarak geri emilimini azaltır, presipitasyonunu önleyerek nekrotik epitelyum hücrelerinin lümeni tıkamasını önler, SOR’a karşı korur (95). Oral yolla sıvı verilmesinin de koruyucu etkilerinin gösterilmiş olmasına rağmen, parenteral yolla sıvı verilmesi, oral sıvı alımına göre daha etkili bir yöntemdir. Ayrıca oral sıvı alımı her zaman mümkün olmayabilir. Böyle durumlarda da İV hidrasyon daha ön plana çıkar (96). Kullanılan intravenöz hidrasyon sıvısı ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Mueller ve ark. (97) kardiyak inceleme için KM verilen 1620 hastada iki farklı hidrasyon rejimini karşılaştırdıkları çalışmalarında %0.9 salin infüzyonunun %0.45 salin infüzyonuna üstün olduğunu göstermiştir. Hidrasyon için kullanılacak sıvının miktarı ve süresinin araştırıldığı çalışmalara göre KMN riskini azaltmak için önerilen protokol 1-1.5 ml/kg/saat intravenöz sıvının işlemden 12 saat önce başlanması ve işlemden sonra 6-24 saat sonra devam edilmesidir. Ancak ayaktan gelen hastalarda bu protokol pratik olmamaktadır. Bu hastalarda işlemden 3

saat önce infüzyonun başlanması ve 12 saat devam edilmesi önerilir (98). %0.9 salin solüsyonuyla hidrasyon şu anda altın standart olarak kabul edilse de, uygulanacak sıvının tipi, dozu, zamanı henüz net olarak tanımlanamamıştır.

Tablo 2. Mehran ve arkadaşlarının perkütan koroner girişimden sonra ortaya çıkabilecek KMN riskini skorlama yöntemi (63)

RİSK FAKTÖRÜ	SKOR
Hipotansiyon	5
İntraaortik balon pompası kullanılması	5
Konjestif kalp yetmezliği (New York Kalp Cemiyeti Sınıf III veya IV)	5
Serum kreatinin > 133µmol/L ya da >1.5 mg/dl veya GFH < 60 ml/dk/1.73 m ²	4
Yaş >75	4
Anemi	3
Diabetes mellitus	3
Her 100 ml kontrast volümü için	1

Risk Kategorisi	Total Skor	KMN gelişme riski	Diyaliz Riski
Düşük	5 ve Altı	%7.5	% 0.04
Orta	6-10	% 14	% 0.12
Yüksek	11-15	% 26.1	% 1.09
Çok yüksek	15 ve Üstü	%57.3	% 12.6

1.1.6.2. Kontrast Maddenin Tipi, Veriliş Sıklığı ve Miktarı

Kontrast maddeye bağlı nefropati gelişiminde risk faktörü olarak yer alan KM tipi, miktarı ve veriliş sıklığı, modifiye edilebilir özellikleri nedeni ile KMN'nin engellenmesinde önemli unsurlardır. Normal renal fonksiyonu olan hastalarda KMN gelişim riski KM'nin osmolalitesine göre değişmemektedir. Ancak orta dereceli renal yetmezliği olan hastalarda DOKM veya izosmolar KM kullanımının renal fonksiyonlardaki gerilemeyi azalttığı gösterilmiştir (42, 87-89). Özellikle yüksek riskli hastalarda KM dozunun mümkün olduğunca düşük kullanılması ve 72 saat içinde tekrarlayan dozlardan kaçınılması KMN'yi önlemek açısından oldukça önemlidir (73, 90). Sonuç olarak kronik böbrek hastalığı olanlarda ve yüksek riskli hastalarda DOKM'nin mümkün olan en düşük hacimde kullanımı ve tekrarlayan KM uygulamalarından kaçınılması KMN riskini anlamlı olarak düşürmektedir.

1.1.6.3. N-Asetil Sistein

Mukolitik bir ajan olan N-asetil sistein (NAC) bilinen antioksidan özelliği (direkt olarak SOR'u temizleyerek ya da indirekt olarak glutasyon üretimi ile) nedeniyle KMN önlenmesi amacıyla onlarca çalışmada kullanılmıştır. Ayrıca NO sentezini arttırarak vazodilatasyon yapması ve medüller iskemiyi azaltması da KMN gelişimi azaltıcı etkisinin mekanizmalarından biri olabileceği düşünülmektedir. Yapılan birçok çalışmada profilaktik olarak NAC verilmesinin KMN insidansını azalttığı gösterilmiştir (94, 99-101). Koroner anjiyografi yapılan ve serum kreatinin seviyeleri >1,2 mg/dl olan 110 hastanın dâhil edildiği bir çalışmada profilaktik NAC tedavisinin özellikle serum kreatinin seviyeleri >2 mg/dl olan hasta grubunda etkili olduğu gözlemlenmiştir (102). Kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda KM kullanımına ilişkin toplam 805 hastanın bulunduğu 8 çalışmanın değerlendirildiği bir meta-analizde, elektif şartlarda hidrasyona ek olarak girişimden bir gün önce ve girişim gününde 400-600 mg 2x1 NAC verilmesinin KMN gelişmesini tek başına hidrasyona göre %56 oranında azalttığı gösterilmiştir (103). Yapılan çalışmalarda özellikle yüksek doz KM uygulanan hastalarda çift doz NAC verilmesinin daha etkili olduğu saptanmıştır (100, 101). Oral alımın kısıtlı ya da hiç mümkün olmadığı hallerde profilaktik NAC uygulamasının işlemden 30 dakika önce 150 mg/kg dozunda ve işlemden sonraki 4 saat içinde 50 mg/kg dozunda intravenöz olarak hidrasyon mayinin içinde yapılmasının da KMN'ye karşı koruyucu etkilerinin olduğu gösterilmiştir (100). Sonuç olarak bu ajanın yararlı olduğunu destekler pek çok bulgunun yanı sıra daha fazla verinin gerekli olduğunu bildiren çok sayıda çalışma da vardır (56, 104, 105). Yapılan son bir çalışma NAC tedavisi KM almayan kişilerde de serum kreatinin düzeyini düşürmüş ve serum kreatininini üzerinden hesaplanan kreatinin klirensini arttırmıştır. Fakat GFH'nın daha iyi bir göstergesi olan sistatin C üzerine etkisi olmamıştır. NAC, renal tübüler sekresyon veya artmış kas metabolizması gibi başka mekanizmalarla serum kreatinin düzeyini azaltıp GFH'de gerçek olmayan bir düzelmeye neden olabileceği öne sürülmüştür (106).

1.1.6.4. Sodyum Bikarbonat

Sodyum bikarbonat infüzyonunun idrarı alkalileştirerek SOR oluşumunu azaltabileceği ve bu sayede KMN gelişimini önleyebileceği düşünülmüştür. Bu amaçla çeşitli çalışmalar da yapılmıştır. Merten ve ark. (107) sodyum bikarbonatı

%0.9 salin infüzyonu ile karşılaştırdıkları çalışmalarında, sodyum bikarbonatlı rejimi KMN'yi önlemede anlamlı olarak daha üstün bulmuşlardır. 145 hastanın alındığı randomize, çift kör bir çalışmada ise bikarbonat veya salin ile yapılan hidrasyonun KMN'yi önlemedeki etkinlikleri bakımından farklı olmadığı rapor edilmektedir (108). 2633 hastanın incelendiği toplam 17 araştırmanın metaanalizinde sodyum bikarbonat bazlı hidrasyon tedavisinin normal salin infüzyonuna göre KMN'yi engellemede daha üstün olduğu gösterilmiştir (109).

1.1.6.5. Dopamin / Fenoldopam

Dopaminin düşük dozlarda (2,5 mcg/kg /dakika) renal vazodilatatör etkilerinin olması nedeniyle bu ajanın profilaktik olarak kullanılması ile KMN riskinin azaltılabileceği düşünülmüştür. Hatta bu amaçla yapılan birkaç çalışmada dopaminin KMN gelişimini azalttığı saptanmıştır (110, 111). Ancak Gare ve ark. (112) tarafından yapılan prospektif çift kör randomize bir çalışmada düşük doz dopaminin (2,5 mcg/kg /dakika) intravenöz saline ek bir fayda sağlamadığı hatta dopamin grubunda serum kreatinin seviyelerinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir.

Fenoldopam dopamin 1 reseptör agonisti olup, periferik, mezenterik ve renal arterlerin kan akımını artırır. Bunun sonucunda renal korteks ve medulla kan akımı da artmaktadır. İlginç bir durum olarak fenoldopam medülladaki kan akımını daha çok artırır. Sonuçta böbrek kan akımındaki artışa bağlı olarak GFH'yi artırması sayesinde KMN gelişimini engelleyebileceği öne sürülmüştür. Yapılan tek merkezli, randomize olmayan çalışmalarda fenoldopamin (0.01- 0.1mcg/kg/dakika dozunda, girişimden 1 saat önce başlanıp ve girişimden 4 saat sonraya kadar devam edilmiş) KMN'ni azalttığı gösterilmiştir (113, 114). Ancak randomize, çok merkezli, çift kör plasebo kontrollü olarak yürütülen bir çalışmada fenoldopamin KMN gelişimini azaltıcı bir etkisi olmadığı görülmüştür (115).

1.1.6.6. Kalsiyum Kanal Blokerleri

Kalsiyum kanal blokerlerinin vazodilatatör etkileri ile KM uygulaması sonrası gelişen vazokonstriksiyonu engelleyebileceği ve nefropati sıklığını azaltabilecekleri düşünülmüştür. Nitrendipinin KM'nin GFH'de azalma, enzimüri ve proteinüri gibi etkilerini azalttığı gösterilmiştir (116). Ancak felodipin, nitrendipin, amilodipin gibi farklı kalsiyum kanal blokerleri ile yapılan çalışmalarda KM'ye bağlı nefrotoksisitede koruyucu etkilerinin olmadığı belirtilmiştir. KMN'de genel yaklaşım

olarak kalsiyum kanal blokerleri profilakside önerilmemiş olup hasta KM uygulaması öncesi bu ajanları kullanıyorsa ilacın kesilmemesi kabul edilebilir görünmektedir (90, 117).

1.1.6.7. Teofilin / Aminofilin

Farklı araştırmalarda nonselektif bir adenozin reseptör antagonisti olan bu ilaçların, adenozinin aracılık ettiği vazokonstrüksiyonu engelleyerek, KMN'yi önlediği ileri sürülmektedir (35, 118). NAC ve teofilinin KMN'yi önleyici etkilerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada 100 ml'den fazla miktarda KM alan hastalarda teofilinin nefropatiyi engelleyici etkisinin daha fazla olduğu görülmüştür (119). Yapılan bazı çalışmalarda teofilinin KMN üzerine olumlu etkileri gösterilmiş olsa da bu ilacın KMN profilaksisinde rutin kullanılması için henüz yeterli miktarda kanıt yoktur.

1.1.6.8. Profilaktik Hemodiyaliz ve hemofiltrasyon

Yapılan araştırmalarda KM'nin hemodiyaliz ile vücuttan uzaklaştırılabileceği gösterilmiştir. Hemodiyaliz uygulamasının KMN gelişimindeki etkilerinin araştırıldığı çeşitli çalışmalar yapılmış ancak nefropatiyi azaltıcı etkileri net olarak gösterilememiştir (120). Hatta yapılan bir çalışmada renal yetersizliği olan hastaların KM sonrası 2 saat içerisinde hemodiyalize alınmasının bu hastalardaki KMN oranını etkilemediği bilakis zararlı olduğu gösterilmiştir (121). Başka bir çalışmada, sadece izotonik salin verilen grup ile KM verildikten sonra iki farklı hemofiltrasyon rejimi uygulanan gruplar arasında KMN insidansında anlamlı bir fark bulunmamıştır (122). Bu yöntemlerle ilgili daha çok ve kapsamlı araştırmalara gereksinim vardır.

1.1.6.9. Diğer Çalışmalar

Kontrast madde nefropatisi patogenezinin yola çıkılarak atrial natriüretik peptid, prostoglandin E1, ADE inhibitörleri, L-arginin, nebivolol, askorbik asit gibi ajanlarla KMN'nin önlenmesi amacıyla gerek klinik gerek prelinik olarak çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Ancak beklenen düzeyde bir sonuç henüz alınamamıştır. Tablo 3'de yüksek riskli hastalarda KMN'yi önlemeye yönelik stratejiler özetlenmiştir (20). KMN karşı koruyucu bir ilaç ya da yöntem bulmak için deneysel ve klinik araştırmalar yoğun bir şekilde devam etmektedir.

Tablo 3. Yüksek riskli hastalarda kontrast nefropatiyi önlemeye yönelik stratejiler (20)

Klinik Kanıtlar Doğrultusunda Önerilen Yöntemler	Çelişkili Veya Yeterli Kanıtı Olmayan Yöntemler	Kaçınılması Gerekenler
Parenteral hidrasyon	Asetilsistein	Furosemid
Non iyonik KM kullanımı	Sodyum bikarbonat	Mannitol
DOKM ya da izoosmolar KM kullanımı	Teofilin	NSAİİ, aminoglikozid, sişplatin gibi nefrotoksik ajanlar
Kontrast volümünün azaltılması	Kalsiyum kanal blokerleri	Yüksek doz KM kullanımı
Kontrast prosedürleri arasında ≥ 48 saat zaman bırakılması	Fenoldopam	Hiperosmolar KM kullanımı
Nefrotoksik ajanlardan kaçınılması	Askorbik asit	72 saat içinde birden fazla kontrastlı işlem uygulanması
Serum kreatinin seviyelerinin monitorizasyonu	Hemofiltrasyon	
	ADE inhibitörleri	

1.2. Sistein Proteazlar

Sistein proteazlar, aktif bölgelerinde sistein aminoasidi bulunan bir grup intrasellüler proteazlardır. Sistein proteazlar üç ana gruptan oluşmaktadır: katepsinler, kaspazlar ve kalpainler. Katepsinler ölümcül hücre hasarında rol oynamadıkları düşünülen kalsiyum bağımlı olmayan lizozomal proteazlardır (123, 124).

Kaspazlar kalsiyum bağımsız sistein proteazlar olup, proksimal (başlatıcı) kaspazlar ve terminal (efektör) kaspazlar olmak üzere iki grupta incelenir. Başlatıcı kaspazlar 1, 2, 4, 5, 8, 9, 10 ve 12 olmak üzere 8 adettir. Efektör kaspazlar ise, proteinazlar tarafından aktive olur ve kaspaz 3, 6, 7, 11, 13 olmak üzere 5 adettir (125). Kaspaz-14 ise yakın zamanda tanımlanmıştır ve embriyonik dokularda bulunduğu ancak erişkin dokularda olmadığı tespit edilmiştir (126). Kaspazlar iki ayrı sinyal yolunda yer alırlar: a) proinflamatuvar sitokinlerin aktivasyonu ve b) apoptotik hücre ölümünün promosyonu. Kaspazlar apoptoziste kritik bir role sahiptirler, bununla birlikte bugün kaspaz yolunun nekrotik hücre hasarında da rol oynadığını gösteren epeyce kanıt bulunmaktadır (127-129).

Kalpain bir sitozolik nötral sistein proteaz olup, aktivasyonu için mutlak kalsiyum bağımlıdır. Kalpainin yaygın ya da geleneksel iki formu bulunmaktadır, bunlar düşük Ca^{2+} sensitif kalpain ve yüksek Ca^{2+} sensitif m-kalpindir. İzoenzimler aynı substrat spesifitesine sahiptir, ancak Ca^{2+} afinitesi yönünden farklılık gösterirler

(130). Prokalpain sitoplazmada inaktif bir proenzim olarak bulunur ancak otoliz olduktan sonra hücre membranlarında aktif hale gelir. Otolize uğramış kalpain aktivitesi kalpastatin olarak adlandırılan bir spesifik endojen inhibitör tarafından son bir düzenlemeye tabi tutulur (131). Kalpain hücre iskeleti ve hücre membranı organizasyonunda, hücre büyümesi, farklılaşma ve gelişmesinin regülasyonunda, apoptotik hücre ölümünde trombosit aktivasyonu ve agregasyonunda, ve Alzheimer hastalığı, sepsis, muskuler distrofi, trombosit fonksiyon bozuklukları, artrit ve malaryayı kapsayan patolojik durumlarda rol oynar. Kalpainlerin beyin, karaciğer, kalp ve proksimal renal tübülde hipoksik/iskemik hasarın mediyatörleri olduğu gösterilmiştir (8, 9, 131).

1.2.1. Renal Hücre Ölümünde Kalpain ve Kaspazlar Arasındaki Etkileşim

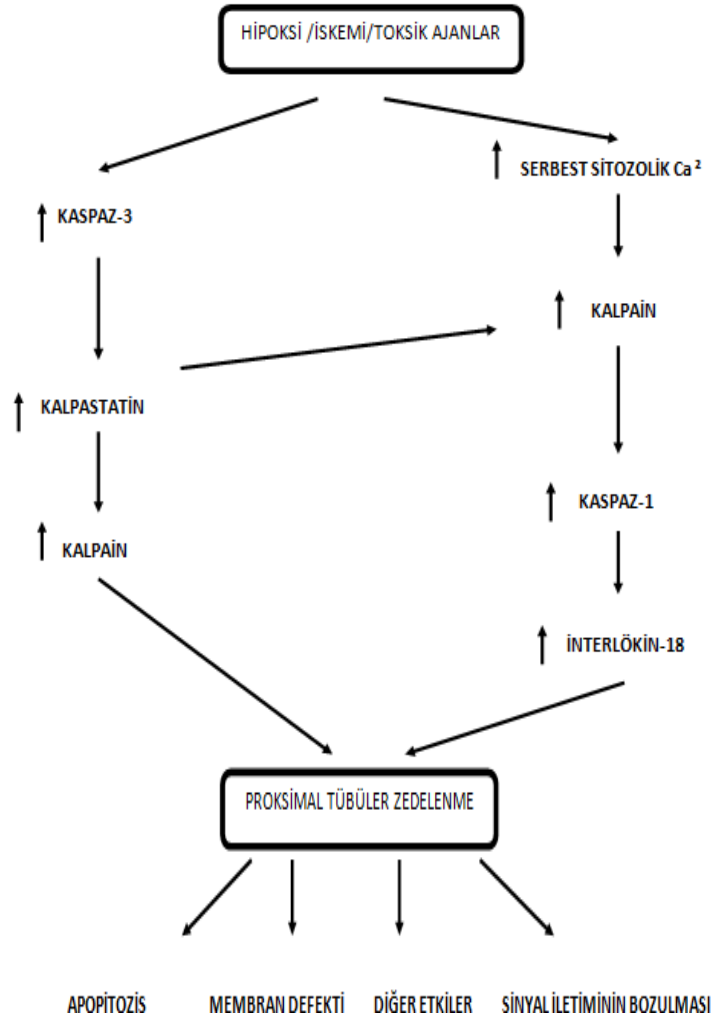
Çalışmalar, hem kalpain hem de kaspazların proksimal tübüllerde hipoksiyle veya toksik ajanlarla indüklenen hücre membran hasarında rol oynadıklarını göstermektedir (59, 132-135). Bu proteazların en fazla araştırıldıkları konu, ana özelliği sitozolik kalsiyumda prelethal bir artış olan hipoksik proksimal tübül modelidir. Spesifik kalpain inhibitörü olan PD150606 ile yapılan bir çalışmada bu molekülün kalpain aktivitesini inhibe ettiği ve rat proksimal tübüllerindeki hipoksik hasarı engellediği saptanmıştır. Ayrıca PD 150606 hipoksi ile indüklenen kaspaz aktivitesindeki artışı da azaltmaktadır. Bununla birlikte PD 150606 pürifiye kaspaz-1 aktivitesini in vitro inhibe etmemektedir, bu da hipoksik tübüler hasar süresince kalpainin kaspazların yukarısında olabileceğini düşündürmektedir. Daha sonra kaspaz inhibisyonunun kalpain aktivitesi üzerine etkileri araştırılmış ve bunun için kullanılan spesifik kaspaz inhibitörü olan Z-D-DC'nin hipoksiyle indüklenen kalpain aktivitesini azalttığı saptanmıştır. Bununla birlikte Z-D-DC pürifiye kalpain aktivasyonunu in vitro inhibe etmemiştir (134). Özet olarak bu veriler hipoksik renal hasar süresince hem kaspaz aracılı kalpain aktivasyonu hem de kalpain aracılı kaspaz aktivasyonu olduğunu düşündürmektedir. Farklı toksik ajanlar ile oluşturulan toksik renal hasarda da kalpain ve kaspaz aktivitelerinin arttığı gösterilmiş olup bunların spesifik inhibitörleri ile inhibe edilmelerinin renal hücre ölümünü azalttığı saptanmıştır. Yakın zamanda Dursun ve ark. (135) tarafından yapılan bir çalışmada kalpain ve kaspazların siplatine bağlı gelişen epitelyal hücre ölümünün bağımsız

mediatörleri oldukları gösterilmiştir. Aynı çalışmada pankaspaz inhibitörü Q-VD-OPH ve kalpain inhibitörü PD 150606 ile sisplatinle bağlı gelişen nekrozun gerilediği saptanmıştır. Bu çalışmadaki bir diğer bulgu ise kalpain inhibisyonunun kaspaz-3 aktivitesini değiştirmeden koruyucu etkilerinin olduğunun saptanmasıdır. Başka bir çalışmada hem izoosmolar KM hem de YOKM uygulaması ile renal hücre kültürlerinde kaspaz-3 ve kaspaz-9 aktivitelerinin arttığı ve apoptozisin geliştiği saptanmıştır (59).

1.2.2. Kalpain İnhibitörleri

Bir düzineden fazla kalpain inhibitörü bilinmektedir. Bunlar geçiş-bölgesi inhibitörleri, irreversibl inhibitörler, kalmodulin antagonistleri ve poliaminlerdir (10). Ancak en çok kullanılanları leupeptin, PD 150606, E 64 gibi peptid aldehitlerdir. Enzimi aktiflemek için aldehit son grubu sülfhidrit grubuna bağlanırlar. Leupeptin için bu bağlanma kalsiyuma bağımlı ve geri dönüşümlüdür. Ancak leupeptin hücre geçirgenliği çok az olan bir kalpain inhibitörüdür. E 64 ve PD 150606 ise geri dönüşümsüz olarak bağlanır (136). Kalpain inhibitör-1 (N-Acetyl-Leu-Leu-norleucinal) peptid aldehit ve keton yapısında olan geçiş bölgesi inhibitörlerindendir. E 64 ve PD 150606 gibi kalpainin aktif bölgesine geri dönüşümsüz olarak bağlanır.

Kalpain inhibitör-1 (KAL-1) katarakt, iskemik serebrovasküler olay, miyokard infarktüsü gibi çeşitli patolojik durumlarda kalpain aktivitesini azaltmak amacıyla araştırılmıştır (137). Kalpain inhibitör-1 ile sağlanan kalpain inhibisyonunun ratlarda oluşturulan renal hipoksi modelinde proksimal tübül hücrelerindeki sitoprotektif etkileri gösterilmiştir (11).



Şekil 3. Renal hücre hasarında kalpain ve kaspazlar arasındaki etkileşim (8)

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma için, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu (FÜHADEK) onayı alındı. Çalışma, standart deneysel hayvan çalışmaları etik kurallarına uygun olarak, Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezinde (FÜDAM) yapıldı.

2.1. Kimyasal Maddeler

Yüksek osmolar KM olarak diatrizoate (Urografin^R %76, Schering AG, İstanbul, Türkiye) kullanıldı. KMN üzerine olan etkilerini araştırmak için KAL-1 ((N-Acetyl-Leu-Leu-norleucinal)^R, Roche Diagnostik Sistemleri, Mannheim, Almanya) kullanıldı. Ayrıca ketamin (Ketalar^R, Phizer, İstanbul, Türkiye) ve xylazine (Rompun^R, Bayer, İstanbul, Türkiye) ratlarda anestezi sağlamak için kullanıldı. Bunların dışında kullanılan kimyasal maddeler Sigma Kimya Endüstrisinden (St. Lois, MO, ABD) temin edildi.

2.2. Deney Hayvanları

Deneylerde kullanılan Sprague Dawley cinsi ratlar, FÜDAM'dan alındı. Ratlar, % 55±5 nisbi nem bulunan, havalandırma sistemine sahip bir ortamda, özel olarak hazırlanmış ve her gün altları temizlenen kafeslerde beslendi. Ratların beslenmesinde, Elazığ Yem Fabrikası'ndan sağlanan pelet şeklindeki standart rat yemleri kullanıldı. Kafeslerde özel bölümlere yerleştirilmiş ve uç kısımlarında damlalık bulunan özel şişeler ile su verildi. Deney hayvanlarının buldukları ortam sıcaklığı 22-24°C arasında sabit tutuldu ve hayvanlar 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlıkta bırakıldı.

2.3. Kontrast Madde Nefropatisi Oluşturulması

Araştırmacılar ratlarda deneysel olarak KMN indüksiyonu için çeşitli yöntemler kullanmaktadırlar. Tüm yöntemlerdeki ortak nokta KM enjeksiyonu öncesi renal hasara yol açıp KMN için predispoze bir durum oluşturmaktır (138). Çalışmalarda en sık kullanılan yöntem belirli bir süre dehidratasyon sonrasında KM enjeksiyonu olup, çalışmada bu yöntem uygulandı. Bu amaçla KM uygulayacağımız toplam 14 rata 72 saat süren dehidratasyon periyodundan sonra, kuyruk venlerinden

26 gauge'lık intravenöz kanül ile 6 ml/kg dozunda diatrizoate uygulanması suretiyle KMN oluşturuldu.

2.4. Deney Gruplarının Oluşturulması

Deneysel çalışmalar, ağırlıkları 150-200 gr olan, 8-10 hafta yaşlarda toplam 28 adet Sprague Dawley cinsi rat üzerinde gerçekleştirildi. Çalışmanın başlangıcında ve sonunda tüm ratların vücut ağırlıkları kaydedildi. Ratlar; kontrol (Grup I), KM (Grup II), KAL-1 (Grup III) ve KM + KAL-1 (Grup IV) olmak üzere 4 gruba ayrıldı.

1. Grup (n=7) Kontrol Grubu: 7 günlük deney süresince herhangi bir işlem yapılmadı ve normal laboratuvar koşullarında yaşatıldılar. Çalışma sonunda ratlardan anestezi altında kan örnekleri alındı ve nefrektomi uygulandı.

2. Grup (n=7) KM Grubu: Bu gruptaki ratlar KM verilmeden önce 3 gün süreyle susuz bırakıldı. Ertesi gün kuyruk venlerinden 26 gauge'lık kanül ile 6 ml/kg dozunda diatrizoate verildi. KM uygulandıktan 24 saat sonra kontrol grubunda olduğu şekilde kan örnekleri alındı ve nefrektomi uygulandı.

3. Grup (n=7) KAL-1 Grubu: Ratlar 3 gün susuz bırakıldıktan sonra 10 mg/kg dozunda KAL-1 intraperitoneal olarak verildi. KAL-1 uygulandıktan 1 saat sonra 6 ml/kg %0.9 sodyum klorür kuyruk venlerinden verildi. KAL-1 uygulandıktan 24 saat sonra kontrol grubunda olduğu şekilde kan örnekleri alındı ve nefrektomi uygulandı.

4. Grup (n=7) KM + KAL-1 Grubu: Dördüncü gruptaki ratlara 3 gün süreyle susuz bırakıldıktan sonra ertesi gün ikinci grupta uygulanan şekilde diatrizoate verildi. Diatrizoate verilmesinden bir saat önce KAL-1 10 mg/kg olacak şekilde intraperitoneal olarak verildi ve 24 saat sonra diğer gruplarda olduğu şekilde kan örnekleri alındı ve nefrektomi uygulandı.

2.5. Kan ve Doku Örneklerinin Toplanması

Çalışmanın sonunda intraperitoneal xylazine ve ketamin ile genel anestezi uygulanıp, laparotomi yapıldı, nefrektomi uygulandı. Sağ böbrek boin solüsyonuna koyularak histopatolojik değerlendirmeler için ayrıldı. Soldaki ise biyokimyasal çalışmalar yapılmak üzere hiçbir işleme tabi tutulmadan alüminyum folyolara sarılarak -70 °C'de analiz gününe kadar saklandı. Tüm gruplardan alınan kan örneklerinin 2 ml'si düz biyokimya tüpüne konularak, aynı gün serum üre ve

kreatinin ölçümü yapılması için ayrıldı. Diğer kan örnekleri ise oksidatif stres belirteçlerinin ölçülmesi için antikoagülanlı tüpe konularak analiz gününe kadar -70 °C’de saklandı.

2.6. Biyokimyasal Değerlendirme

2.6.1. Serum Üre ve Kreatinin Ölçümü

Serum kreatinin ölçümü Jaffe yöntemi ile serum üre ölçümü otoanalizörde kinetik UV assay yöntemi ile yapıldı. Sonuçlar mg/dl olarak ifade edildi.

2.6.2. Dokuda Malonildialdehid Düzeylerinin Ölçümü

Böbrek dokusunda malonildialdehid (MDA) ölçümü Matkovics ve arkadaşları tarafından modifiye edilen Placer ve arkadaşlarının yöntemine göre spektrofotometre ile yapılmıştır (139). Tiobarbitürik asitin (TBA) spektrofotometrik ölçümüne dayanan bu metod ile 0.5 mL homojenata 2.5 mL, 100g/L trikloroasetik asit (TCA) solüsyonu ilave edildi. 532 nm’de absorbe olan pembe renkli kompleks elde edildi. MDA-TBA kompleksi absorban katsayısı ($1.56 \times 10^5 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$) kullanılarak MDA konsantrasyonu hesaplandı. Sonuçlar “nmol/g doku” olarak ifade edildi.

2.6.3. Dokuda Süperoksit Dismutaz Düzeyinin Belirlenmesi

Total süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi Sun ve arkadaşlarının tanımladığı yöntemle ölçüldü (140). Bu metod ile nitroblue tetrazoliumun (NBT) Ksantin/Ksantin oksidaz sistemini indirgemesi esas alındı. Aktivite 1.0 mL etanol/kloroform (5/3) karışımının aynı miktarda süpernatant örneğine ilavesi ve bunun santrifüj edilmesinden sonra ölçüldü. Aktivite gram başına ünite olarak ifade edildi.

2.6.4. Dokuda Katalaz Düzeyinin Belirlenmesi

Katalaz (CAT) düzeyi Aebi tarafından tanımlandığı şekilde, hidrojen peroksit düzeyindeki değişiklik (azalma) sabit bir düzeye (s-1,k) gelinceye kadar dakikalık spektrofotometrik absorban ölçümü ile belirlendi. Enzim aktivitesi gram başına değişim sabiti (k) olarak belirtildi (141).

Bu üç parametrenin değerlendirmesi için böbrekten protein ölçümü Lowry metodu ile yapıldı (142).

2.7. Histolojik Çalışma

Bütün gruplardan alınan böbrek dokuları, boin solüsyonunda 24 saat boyunca tespit edildikten sonra musluk suyu altında yıkandı. Musluk suyunda yıkanan dokular ardından rutin histolojik takip serilerinden geçirildi (Tablo 4). Daha sonra böbrek dokuları parafin bloklara gömüldü. Bu parafin bloklar içinden 5-6 µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler Hematoksilen – Eozin (H&E) ve periyodik asit schiff (PAS) yöntemiyle boyandı. Elde edilen preparatlar araştırma mikroskobunda (Olympus BH-2) incelenip fotoğraflandı.

Tablo 4. Histolojik takip serileri

Sıra	İşlem	Süresi
1	% 70 Alkol	2 saat
2	% 80 Alkol	1.5 saat
3	% 96 Alkol I	30 dakika
4	% 96 Alkol II	30 dakika
5	% 100 Alkol I	30 dakika
6	% 100 Alkol II	30 dakika
7	Alkol + Xylol	15 dakika
8	Xylol I	15 dakika
9	Xylol II	15 dakika
10	Yumuşak parafin + Xylol	45 dakika
11	Yumuşak parafin	1 Saat
12	Yumuşak parafin – Sert parafin	1.5 saat
13	Sert Parafin	3 saat
14	Gömme	

Böbrek dokusunda oluşan hasarın değerlendirilmesinde; böbrek proksimal ve distal tübülüslerindeki vakuolizasyon, dejenerasyon, nekrotik değişiklikler ile medülladaki peritübüler fibrozis ve infiltratif hücre artışı, randomize seçilmiş mikroskop sahalarında değerlendirilerek semikantitatif olarak skorlandı (Tablo 5).

Tablo 5. Histopatolojik hasarın derecesi

Derece	Anlamı
0	Yok
+1	Az (<%10)*
+2	Orta (% 25-50)*
+3	Şiddetli (>%50)*

*İncelenen mikroskop sahalarındaki hasarlı bölgenin sağlam bölgeye oranı

2.8. TUNEL (TdT-mediated nick and labeling technique) Metodu

Apoptotik sinyal kaskadında DNA kırıklarının saptanmasında, TUNEL yöntemi yaygın olarak kullanılmaktadır. İlk kez 1992 yılında Gavrieli ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır (143). Apoptozisde sonlandırıcı proteinler aktifleştikten sonra sitoplazma ve çekirdekte hedef proteinleri yıkarlar. Bu proteinlerden bir tanesi DNA endonükleaz ile bağ yapan bir proteindir. Kaspazlar bu proteini yıkarak endonükleazı serbestleştirirler. Çekirdek içine giren Ca-Mg bağımlı endonükleaz, DNA kırıkları oluşturur. TUNEL yöntemi bu DNA kırıklarının saptanmasını sağlar (144).

Parafin bloklardan 5 µm kalınlığında olacak şekilde elde edilen kesitler polilizinli lamlara alındı. Üretici firmanın önerileri doğrultusunda ApopTag Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit (Chemicon, cat no: S7101, USA) kullanılarak apoptozise uğrayan hücreler belirlendi. Boyama işlemi aşağıdaki tabloda ayrıntılı olarak verilmiştir (Tablo 6).

Tablo 6. TUNEL boyama işlemi

İŞLEM	SÜRE
1 60°C etüv	Bir gece
2 Xylol	3X15 dakika
3 %100, %96, %80, %70 etil alkol	3'er dakika
4 PBS*	5 dakika
5 Kesitlerin çevreleri sınırlayıcı kalem ile çizilir.
6 1:500 dilüsyondaki Protinaz K solüsyonu	20 dakika
7 PBS	3X5 dakika
8 Endojen peroksit blokajı (% 3 H ₂ O ₂)	3 dakika
9 PBS	3X5 dakika
10 Equilibration tampon solüsyonu	10 dakika
11 Çalışma solüsyonu (%70 µl Reaction Buffer + %30 TdT Enzyme) 37°C'de	60 dakika
12 Stop/Wash Buffer (2ml) +Distile su (68ml) Oda sıcaklığında	10 dakika
13 Anti-Digoxigenin-Peroxidase	30 dakika
14 PBS	3X5 dakika
15 DAB** Dilution Buffer + DAB Substrate	5-10dakika
16 PBS	3X5 dakika
17 Distile su	5 dakika
18 Harris hematoksilen	1-5dakika
19 Distile su	5 dakika
20 %80, %96 ve %100 etil alkol	1'er dakika
21 Xylol	2X5 dakika
22 Kapatma medyumunu kullanılarak lamel ile kapatma.

* - PBS (Phosphate Buffered Saline)

** - DAB (3,3'-diaminobenzidine).

Elde edilen preparatlar araştırma mikroskopunda (Olympus BH-2) incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı. TUNEL boyama işleminin değerlendirilmesinde hematoksin ile maviye boyanan çekirdekler normal, kahverengi nükleer şekilde boyanan hücreler apoptotik olarak değerlendirildi. TUNEL boyamanın değerlendirilmesinde boyanmanın yaygınlığı esas alındı. TUNEL boyamanın yaygınlığı 0'dan +4'e kadar sayı ile semi-kantitatif olarak skorlandı (Tablo 7).

Tablo 7. TUNEL boyanma yaygınlığının derecesi

Derece	Anlamı
0	Yok
+1	Çok az
+2	Az
+3	Orta
+4	Şiddetli

2.9. İstatistiksel Analiz

Elde edilen veriler ortalama \pm standart hata olarak belirlendi. İstatistiklerin hazırlanmasında SPSS 16.00 bilgisayar paket istatistik programı kullanıldı. Gruplar arası verilerin karşılaştırılması için analysis of variance (ANOVA), post-hoc çalışma için Bonferroni testi kullanıldı. Bağımsız iki grup arasındaki karşılaştırma için ise Mann-Whitney U testi kullanıldı. $P < 0.05$ değerler anlamlı olarak kabul edildi.

3. BULGULAR

3.1. Klinik ve Biyokimyasal Bulgular

Çalışma boyunca rat kaybı olmadı. Dehidratasyon protokolü uygulanan tüm gruplarda, dehidratasyon sonrasında vücut ağırlığı anlamlı olarak azaldı. Tablo 8’de deney sonunda elde edilen klinik ve biyokimyasal veriler gösterilmiştir.

3.1.1. Serum Üre ve Kreatinin Düzeyleri

Grup II’de, serum üre ve kreatinin seviyeleri diğer gruplara göre daha yüksek saptandı. Grup II (KM grubu) ile Grup I (Kontrol grubu) karşılaştırıldığında, Grup II’de serum üre ve kreatinin düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artış vardı (her ikisi için $p<0.02$). Grup III ve Grup IV’te ise Grup I’e göre üre ve kreatinin seviyelerinde artış saptanmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Grup II ile grup IV karşılaştırıldığında üre ve kreatinin düzeylerinde anlamlı farklılık saptandı (sırasıyla $p<0.07$, $p<0.02$). Grup III (KAL-1 grubu) ve Grup IV (KM+KAL-1 grubu) kendi aralarında değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı (Tablo 8) (Şekil 4-5).

Tablo 8. Çalışma gruplarında klinik ve laboratuvar veriler

	Grup I (Kontrol) (n=7)	Grup II (KM) (n=7)	Grup III (KAL-1) (n=7)	Grup IV (KM+KAL-1) (n=7)
Başlangıç ağırlık	186.8±36.9	180.5±24.4	179.8±23.4	176.9±12.3
6. gün ağırlık	191.4±33.8	154.4±21.1	155.9±19.1	156.8±16.7
Üre (mg/dl)	39.85±1.95	46±2.44 ^a	41.28±1.79 ^b	41.14±2.19 ^b
Kreatinin (mg/dl)	0.50±0.04	0.67±0.03 ^a	0.52±0.03 ^b	0.48±0.03 ^{b,c}
SOD (U/mg)	1.36±0.27	1.88±0.64	1.84±0.54	1.72±1.05
CAT (k/g)	0.69±0.05	0.98±0.11 ^a	0.83±0.13 ^{a,b}	0.84±0.12 ^a
MDA (nmol/g)	18.87±2.64	28.84±4.75 ^a	20.22±2.31 ^b	25.01±2.85 ^{a,c}

SOD: Süperoksit dismutaz

CAT: Katalaz

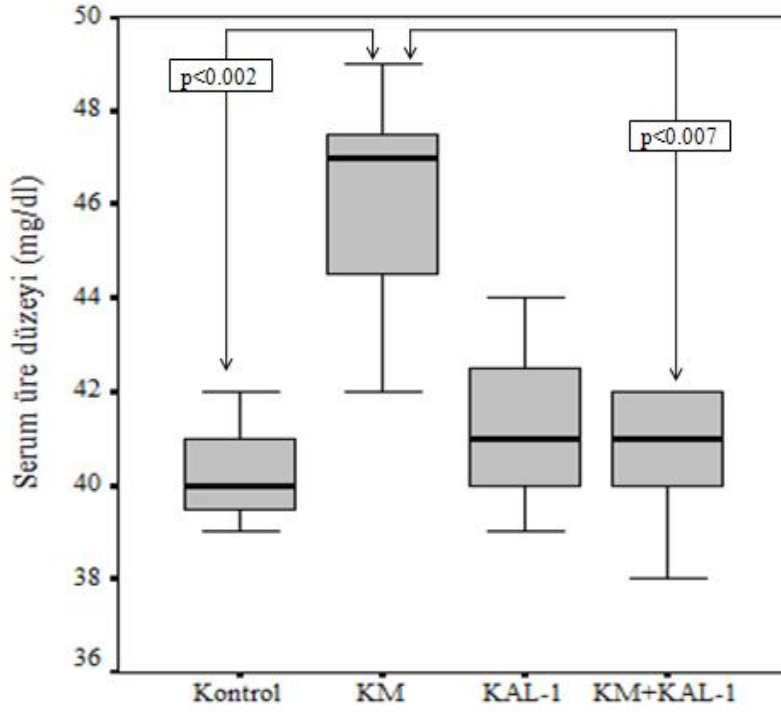
MDA: Malondialdehid

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

Grup I ile karşılaştırıldığında: ^a $p<0.05$

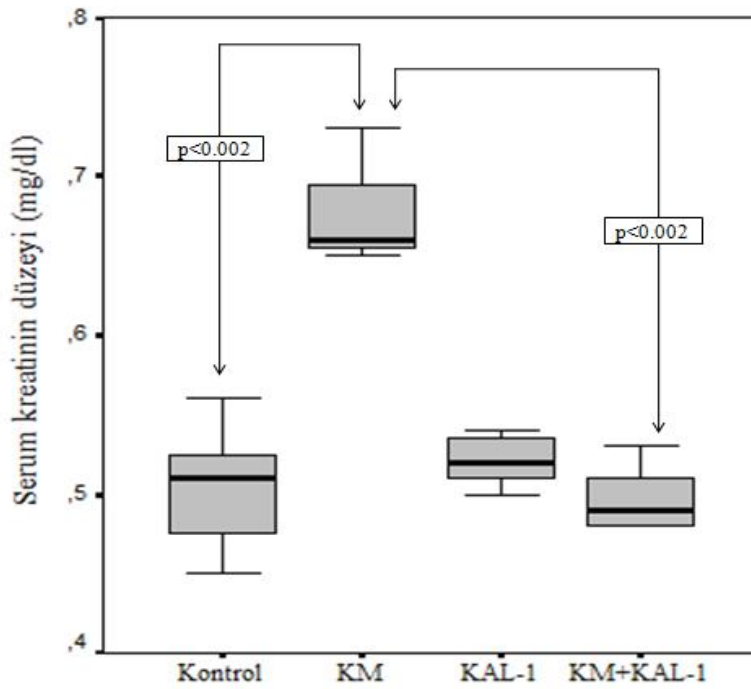
Grup II ile karşılaştırıldığında: ^b $p<0.05$

Grup III ile karşılaştırıldığında: ^c $p<0.05$



KM: Konstrast madde, KAL-1: Kalpain İnhibitörü-1

Şekil 4. Çalışma gruplarında serum üre düzeyleri



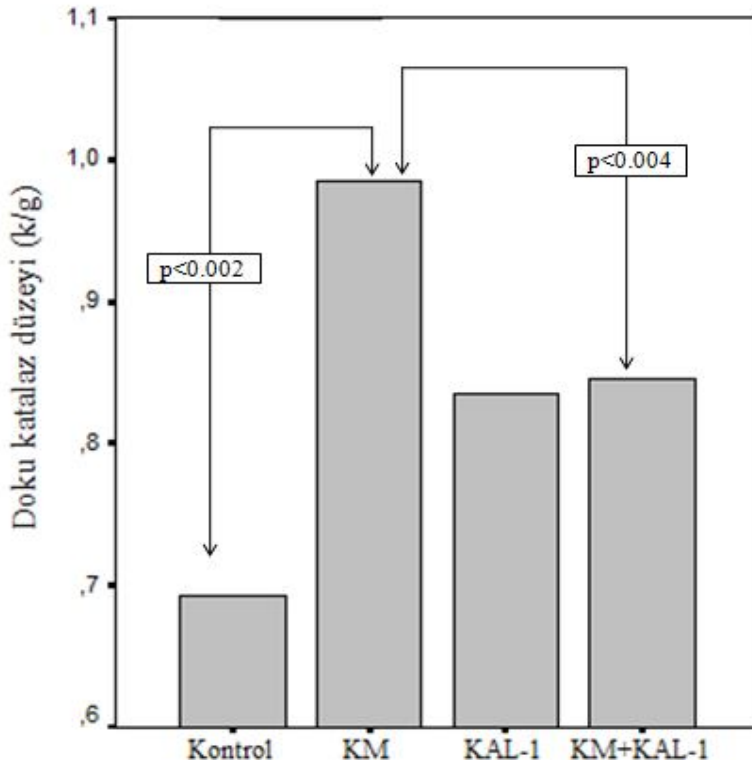
KM: Konstrast madde, KAL-1: Kalpain İnhibitörü-1

Şekil 5. Çalışma gruplarında serum kreatinin düzeyleri

3.1.2. Doku Süperoksit Dismutaz, Katalaz ve Malonildialdehid Düzeyleri

Tüm gruplar için, böbrek dokusunda biyokimyasal analizler sonucunda elde edilen MDA düzeyleri ve SOD, CAT enzim aktivitelerine ait veriler tablo 8, şekil 6, 7 ve 8’de gösterilmiştir.

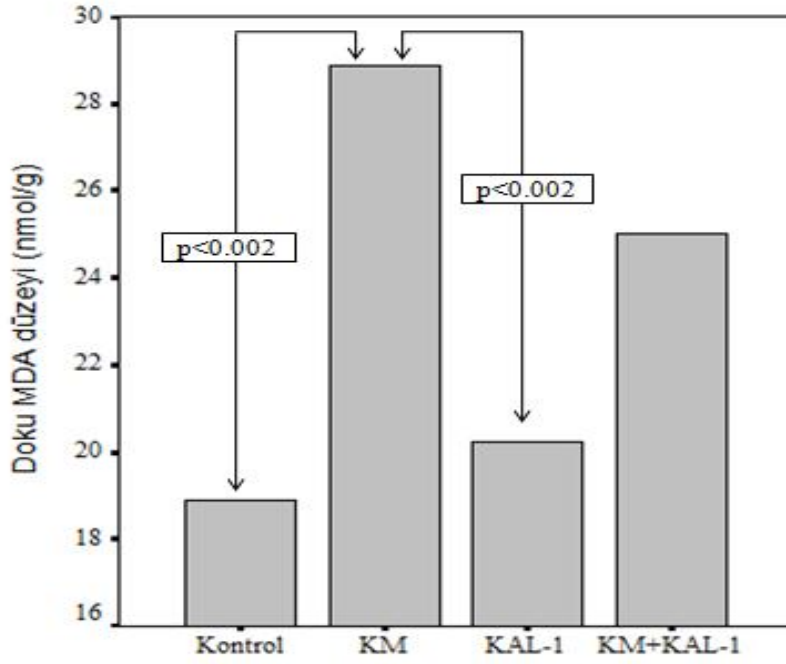
Böbrek dokusunda ölçülen CAT düzeyleri açısından kontrol grubu ile sadece KM verilen grup arasında belirgin bir fark gözlemlendi, enzim aktivitesi KM verilen grupta artmış olarak saptandı ($p<0.002$). KM ile birlikte KAL-1 verilen grupta sadece KM verilen gruba göre CAT düzeylerinde anlamlı bir azalma saptandı ($p<0.002$). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında KAL-1 grubu ve KM+KAL-1 grubunda CAT seviyeleri anlamlı olarak yüksek saptandı (her ikisi için $p<0.02$).



KM: Kontrast madde, KAL-1: Kalpain İnhibitörü-1

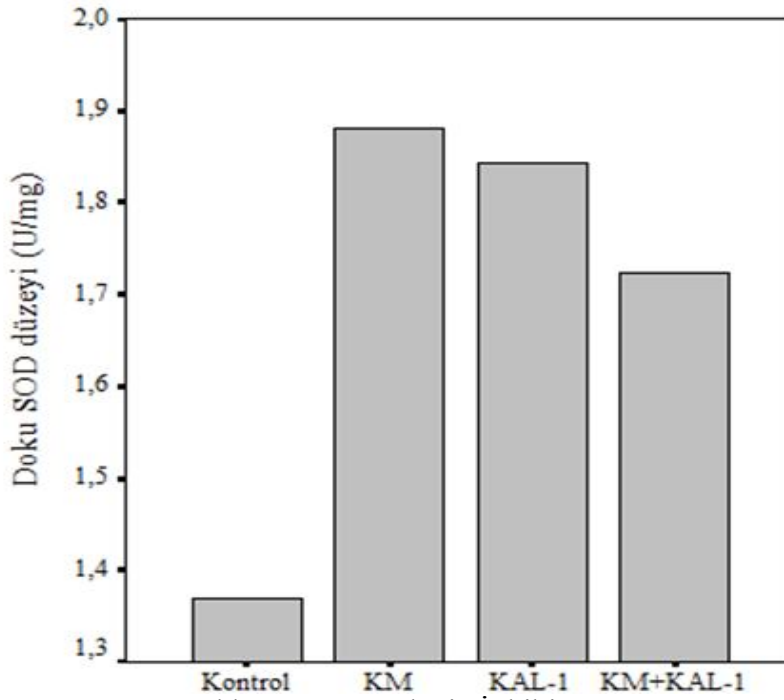
Şekil 6. Doku katalaz enzim aktivitesi

Tüm gruplar doku MDA düzeyleri açısından incelendiğinde, kontrol grubuna göre KM ve KM+KAL-1 gruplarında MDA düzeyi anlamlı olarak daha yüksek saptandı (sırasıyla $p<0.002$, $p<0.006$). KM+KAL-1 ve KAL-1 gruplarında KM grubuna göre MDA düzeyleri daha düşük olmakla birlikte sadece KAL-1 grubu ile KM grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi ($p<0.002$).



KM: Kontrast madde KAL-1: Kalpain İnhibitörü-1, MDA: Malonildialdehid

Şekil 7. Doku malonildialdehid (MDA) düzeyleri



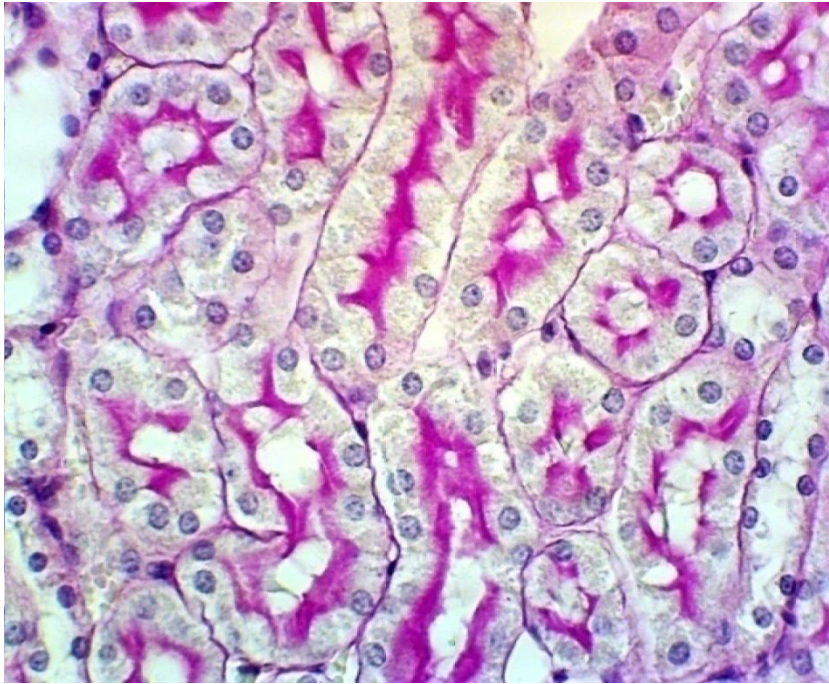
KM: Kontrast madde KAL-1: Kalpain İnhibitörü-1, SOD: Süperoksit dismutaz

Şekil 8. Doku süperoksit dismutaz (SOD) düzeyleri

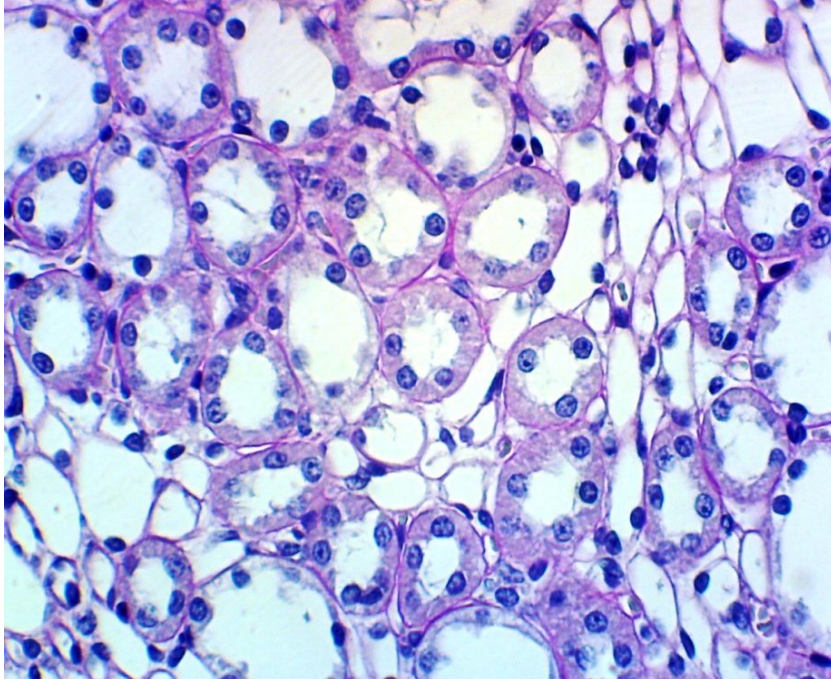
Böbrek dokusundaki SOD düzeyi KM grubunda en yüksek, kontrol grubunda en düşük olmakla birlikte gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

3.2. Histopatolojik Bulgular

Kontrol grubuna ait kesitlerde, kortekste glomerüllerin normal yapı ve boyutlarda olduğu dikkati çekti. Korteks ve medülladaki tübüllerde vakuolizasyon, dejenerasyon veya nekrotik değişiklikler gibi patolojik bir bulguya rastlanmamıştır (Şekil 9-10).



Şekil 9. Grup I (kontrol grubu): normal yapıda olan kortikal tübüllerin histolojik görünümü (PAS X 200)



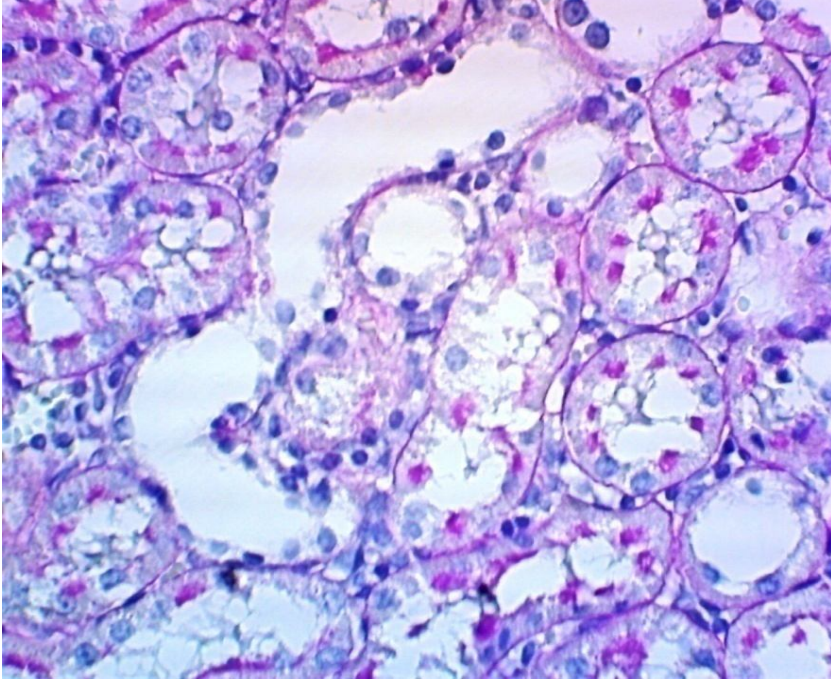
Şekil 10. Grup I (kontrol grubu): normal yapıda olan medüller tübüllerin histolojik görünümü (PAS X 200)

Kontrast verilen grupta (Grup II) kortekste bazı glomerüluslara ait yapı ve boyutlarda anlamlı farklılıklar izlendi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında KM grubuna ait kesitlerde tübül epitelinde düzensizlik ve dökülmeler, bazal membranlarda kalınlaşma, ayrışma ve bozulmalar belirgin şekilde artmıştı (Şekil 11).

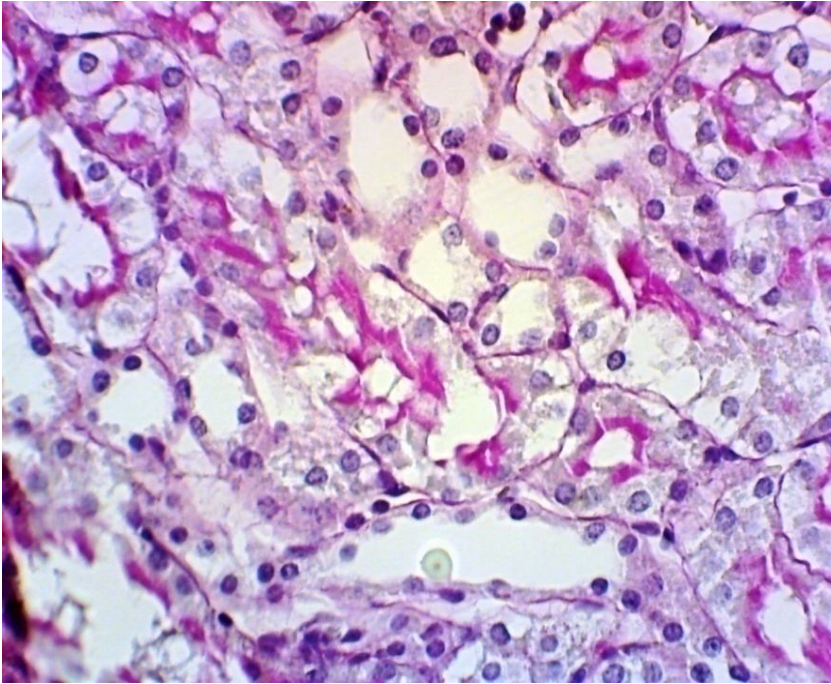
Kortikal bölgedeki tübülslerde daha belirgin olmak üzere epitel vakuolizasyonu kontrol grubuna göre belirgin şekilde fazlaydı (Şekil 12).

Kontrast madde grubunda tübüler epitelde yassılaşma, epitel hücrelerinde dökülmeler ve hyalen birikimleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha fazla gözlemlendi (Şekil 13).

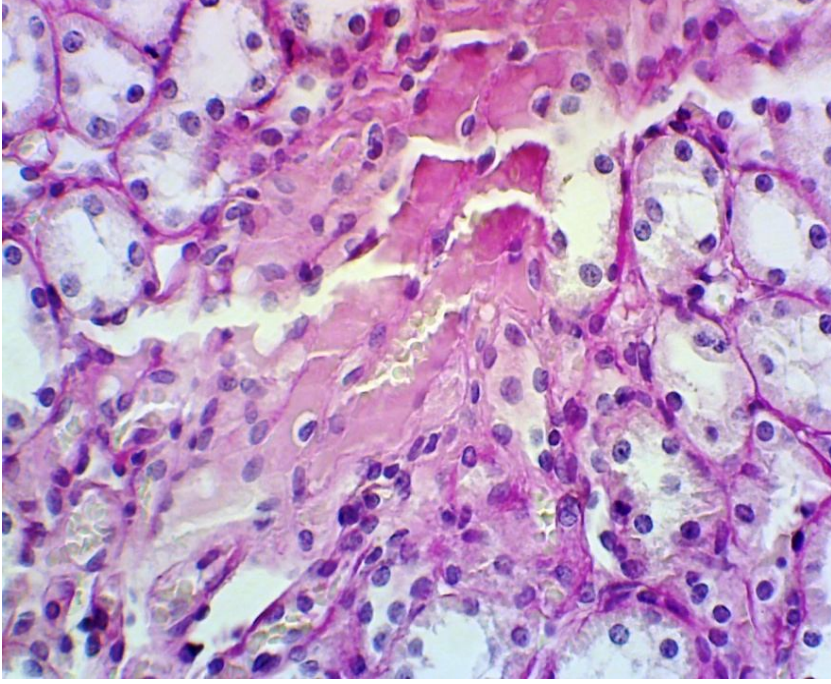
Glomerüller ve tübülsler arasında intertisyel alanda iltihabi hücre infiltrasyonunda artış mevcuttu (Şekil 14). Kortikomedüller bölgede peritübüler fibrotik alanlar ve bunlar arasındaki köprüleşmeler KM grubunda diğer gruplara göre daha sık gözlemlendi (Şekil 15).



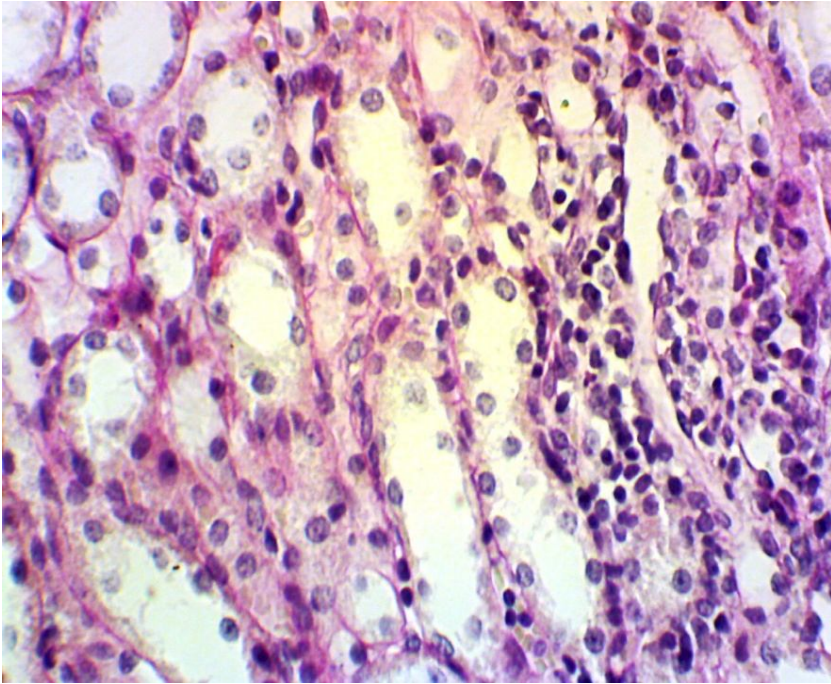
Şekil 11. Grup II (KM grubu): belirgin tübüler dilatasyon, tübül epiteli fırçamsı kenarlarında ayrılma ve bozulmalar (PAS X 200)



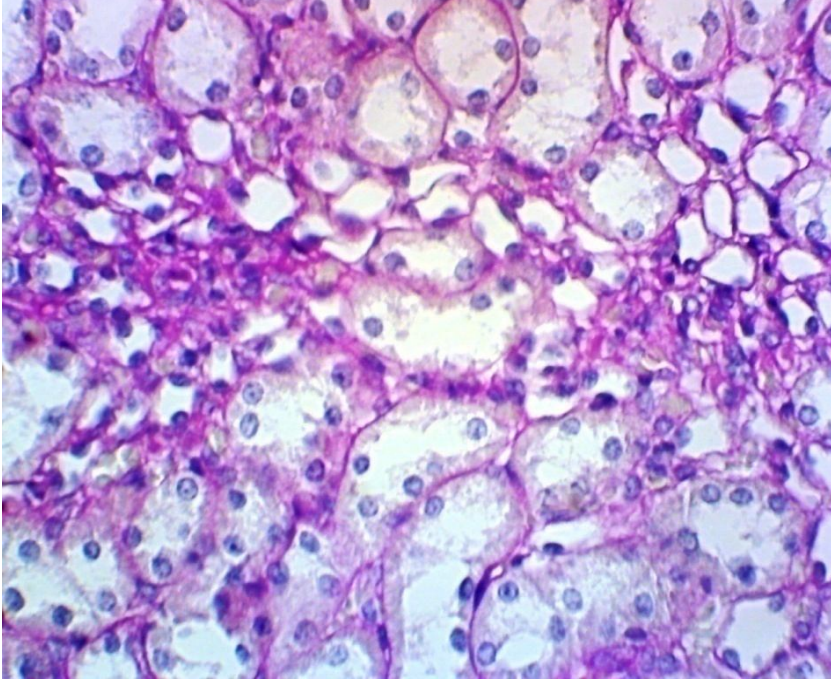
Şekil 12. Grup II (KM grubu): tübüler lezyonlar ve vakuolizasyon (H&E X 200)



Şekil 13. Grup II (KM grubu): medülladaki tübül epitellerinde destrüksiyon, bazal membranlarda kalınlaşmalar ve hyalen birikimleri (H&E X 200)



Şekil 14. Grup II (KM grubu): medüllada iltihabi infiltrasyon (PAS X 200)

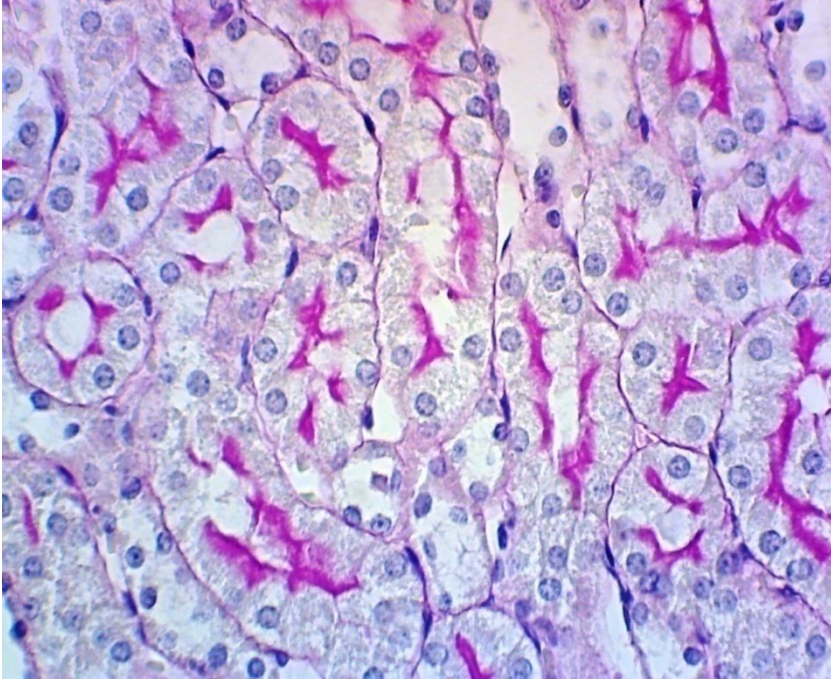


Şekil 15. Grup II (KM grubu): medüllada peritübüler fibrotik alanlar ve bu alanlar arasındaki köprüleşmeler (PAS X 200)

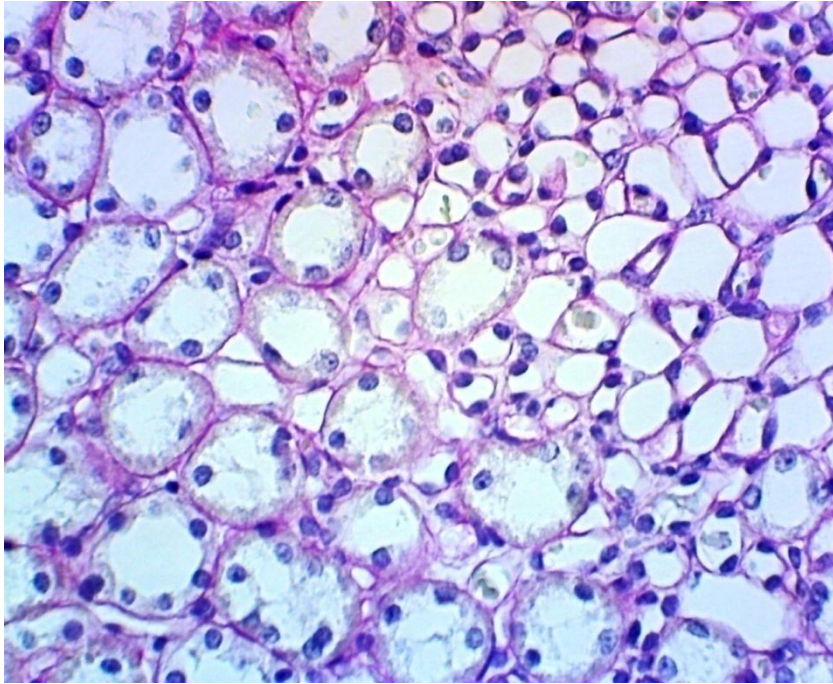
Grup IV’de (KM+KAL-1 grubu) interstisyel inflamasyon, interstisyel fibrozis, tübüler epitel değişiklikleri ve hücre dökülmeleri, bazal membran kalınlaşması, dilatasyon, vakuolizasyon, hyalen birikimleri gibi tübülointerstisyel hasar bulguları anlamlı olarak daha az olarak gözlemlendi (Şekil 16,17).

Grup III’de (KAL-1 grubu) korteks ve medülladaki oluşumların yapılarının korunduğu gözlemlendi. Glomerül bazal membranı normal kalınlık ve görünümüne sahipti. Tübül epitellerinde kontrol grubuna göre daha fazla vakuolizasyon olması dikkat çekmekteydi (Şekil 18). Tübüler hasara ait diğer bulgulara rastlanmadı.

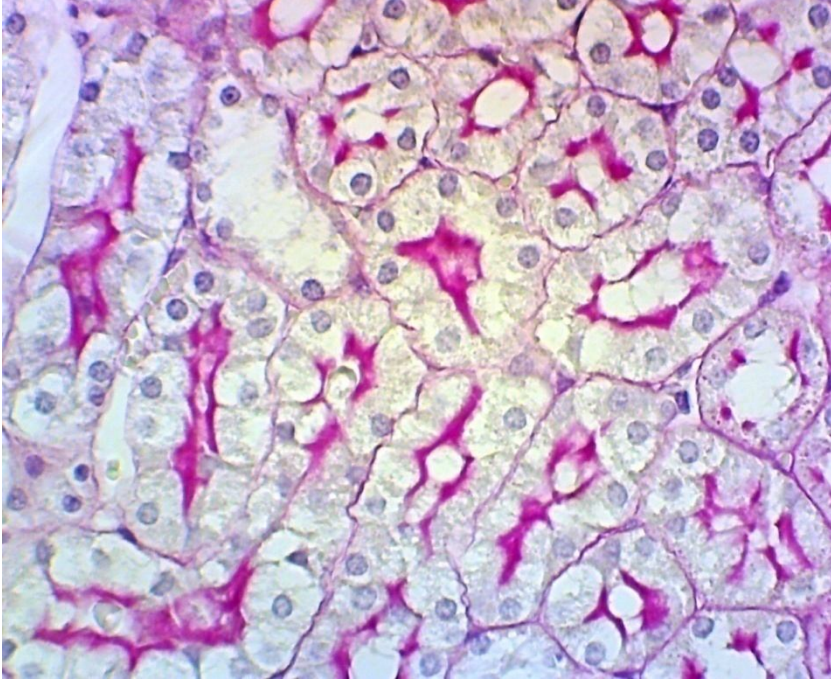
Sonuç olarak KAL-1 ile sağlanan kalpain inhibisyonunun böbrekte korteks ve medüllada KM’ye bağlı oluşan hasara karşı koruyucu etkilerinin olduğu gözlenmiştir.



Şekil 16. Grup IV (KM+KAL-1 grubu): kortikal tübüllerde orta düzeyde epitel farklılaşması ve hidropik değişiklikler (H&E X 200)



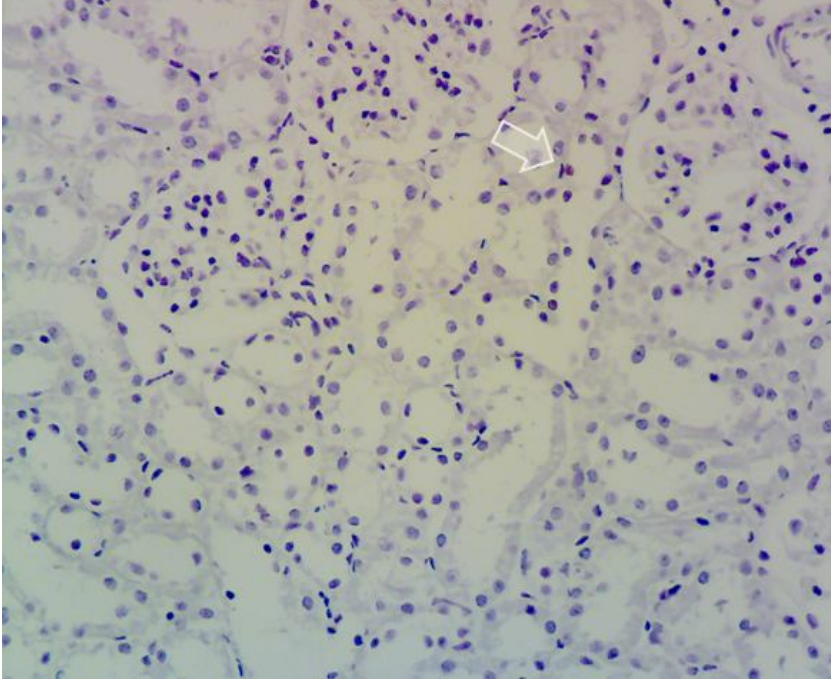
Şekil 17. Grup IV (KM+KAL-1 grubu): medülladaki tübüllerde orta düzeyde epitel farklılaşması (PAS X 200)



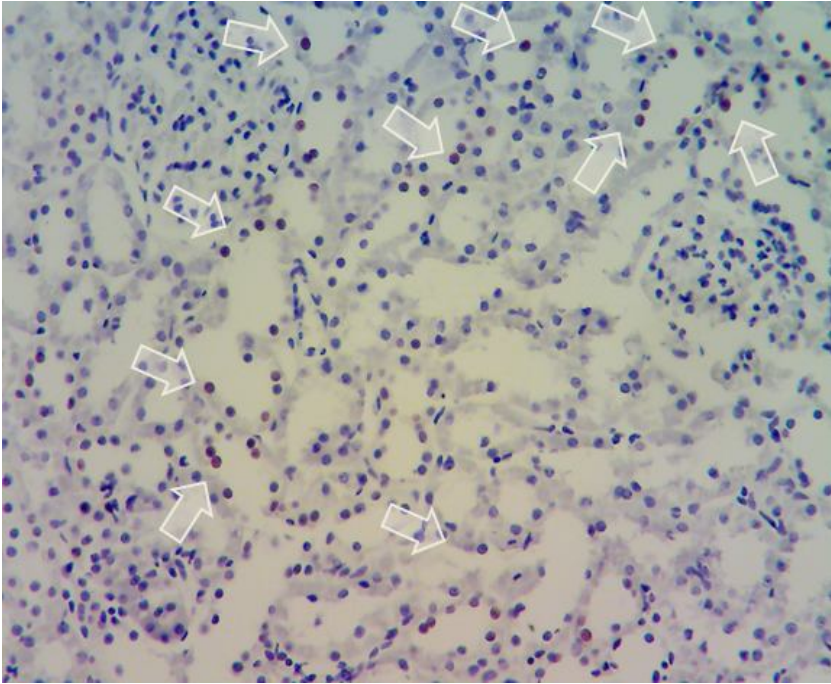
Şekil 18. Grup III (KAL-1 grubu): tübül epitellerinde orta düzeyde vakuolizasyon

3.3. TUNEL Bulguları

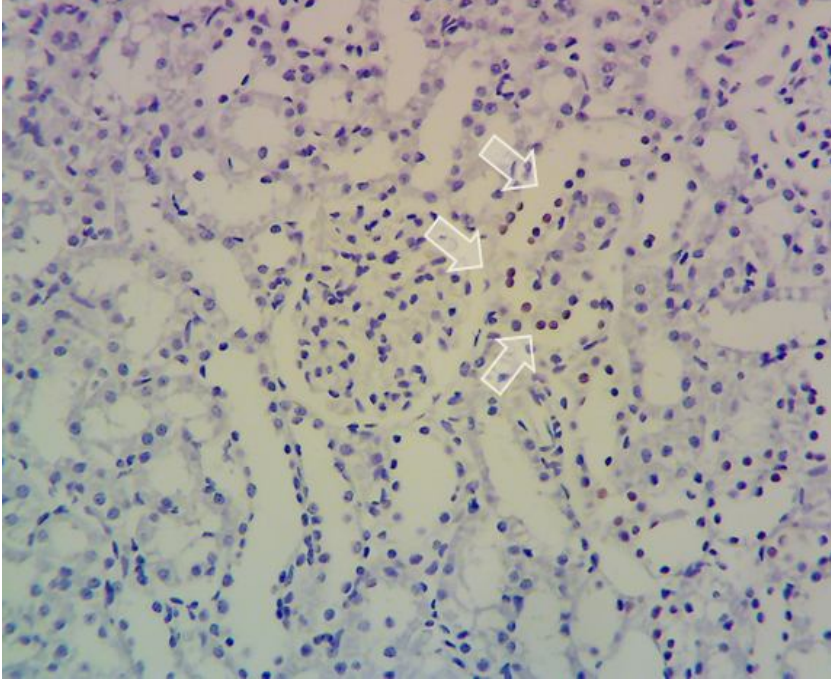
Apoptotik hücrelerin belirlenmesi için yapılan TUNEL boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; TUNEL pozitifliği kontrol grubunda +1 yaygınlığında gözlemlendi (Şekil 19). Kontrol grubu ile kıyaslandığında KM grubunda belirgin olarak artmış TUNEL pozitifliği dikkati çekti ve +4 olarak değerlendirildi (Şekil 20). KM+KAL-1 grubunda ise TUNEL pozitifliği KM grubuna göre anlamlı olarak azalmış olup +2 olarak değerlendirildi (Şekil 21).



Şekil 19. Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda +1 yaygınlığında TUNEL pozitif hücreler (→) X 100



Şekil 20. KM grubuna ait böbrek dokusunda +4 yaygınlığında TUNEL pozitif hücreler (→) X 100



Şekil 21. KM+KAL-1 grubuna ait böbrek dokusunda +2 yaygınlığında TUNEL pozitif hücreler (→) X 100

4. TARTIŞMA

Kontrast ajanların kullanımına bağlı nefrotoksisite ile ilgili ilk yayınların yaklaşık 50 yıl önce bildirilmesiyle birlikte gündeme gelen kontrast nefropatisi, KM'lerin intravasküler kullanımını kısıtlayan en önemli nedenlerden biridir. Yapılan araştırmalarda hastanede gelişen akut böbrek yetmezliklerinin en sık üçüncü nedeni olarak saptanması ve artmış morbidite ve mortalite hızıyla ilişkili olması KMN'nin önemini arttırmaktadır (1, 3, 17).

Literatürde, KAL-1'in renal iskemi/reperfüzyon hasarındaki etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda, kalpın inhibisyonuyla renal tübüler epitel hücrelerinde apoptozisin ve oksidatif stresin azaldığı, renal fonksiyonların korunduğu gösterilmiştir (11). Bu çalışmada ratlarda kontrast nefropati modeli oluşturulmuş ve KAL-1 ile sağlanan kalpın inhibisyonunun KMN'de oluşan renal değişiklikler üzerine olan etkileri araştırılmıştır.

Genel olarak volüm azlığı, diabetes mellitus, kronik böbrek hastalığı, yaş, konjestif kalp yetmezliği gibi durumlar KMN gelişimi için risk faktörleridir. Kontrast kullanımı sonrası nefropati gelişme sıklığı risk faktörleri ile doğru orantılıdır (14, 15). Deneysel hayvan modelleriyle yapılan çalışmalarda tek başına KM verilerek nefropati oluşturulması güç görünmektedir. Literatürde araştırmacılar deneysel kontrast nefropatisini indüklemek için dehidratasyon, diüretikler, nefrektomi, gliserol, NSAİİ gibi farklı yöntemler kullanmaktadırlar (138). Bazı araştırmacılar 24 saatlik dehidratasyon sonrası 10 ml/kg KM ile renal hasarlanma ve serum kreatinin değerlerinde yükselme gözlemlediklerini belirtmişlerdir (145). Yapılan bazı çalışmalarda ise 24 saat dehidratasyon sonrası KM verilmesi ile renal hasar ve serum kreatinin düzeylerinde yükselme gözlenmemiş, gliserol injeksiyonu veya indometazin ile birlikte KM uygulandığında KMN olduğu ve doku MDA düzeylerinin arttığı saptanmıştır (146). Toprak ve ark. (147) yaptıkları bir çalışmada 72 saatlik dehidratasyon süresi sonrası ratların ağırlıklarının %30'unu kaybettiklerini ve dehidratasyon sonrası intravenöz olarak uygulanan 6 ml/kg diatrizoatın kontrol grubuna göre anlamlı olarak serum kreatinin ve MDA seviyelerini yükselttiğini göstermişlerdir. Genel olarak iyonik YOKM'lerin ve yüksek dozda KM kullanmanın daha nefrotoksik olduğu kabul edildiği için çalışmamızda KM olarak iyonik YOKM olan diatrizoat kullanıldı. Deneysel modellerde istenilen sıklıkla böbrek yetmezliği

geliştirilemediği için dehidratasyon süresi 72 saat olarak belirlendi ve belirlenen bu susuzluk süresi sonrası ratlara 6 ml/kg dozunda diatrizoat verilerek nefropatinin indüklenmesi amaçlandı.

Çeşitli çalışmalarda ratlara 10 mg/kg dozunda uygulanan KAL-1 ile kalpain inhibisyonunun sağlandığı gösterilmiştir (11, 148). Çalışmamızda ratların ortalama ağırlıkları dikkate alınarak KMN gelişmesini önleyebilmek için KM uygulamasından 30 dakika önce intraperitoneal olarak 10 mg/kg dozunda KAL-1 verildi.

Kontrast madde uygulamasını takiben ilk 24 saat içinde serum kreatinin seviyelerinin yükselmesi KMN tanısı için gereklidir (1). KM grubunda kontrol grubuna göre üre ve kreatinin değerleri anlamlı olarak yüksek saptandı (sırasıyla $p<0.002$, $p<0.002$). KM grubundaki serum kreatinin seviyelerindeki yükselme KMN'nin tanı ve klinik seyri ile benzerlik göstermektedir (1, 12, 13). KM grubu ile karşılaştırıldığında KAL-1 alanlarda serum kreatinin ve üre değerleri anlamlı olarak düşük saptandı (sırasıyla $p<0.002$, $p<0.007$). Kontrol ve KAL-1 grupları arasında üre ve kreatinin değerleri açısından anlamlı farklılık izlenmedi. Serum üre ve kreatinin değerlerinin KM+KAL-1 grubunda KM grubuna göre anlamlı ölçüde düşük saptanması KAL-1'in renal fonksiyonlar üzerine koruyucu etkisi olduğunu desteklemektedir.

Son zamanlarda, bir çok klinik durum ile bağlantısı olduğu düşünülen oksidatif dengedeki bozulmanın KMN fizyopatolojisinde de rolü olduğu gösterilmiştir (29, 44). KMN patogenezinde olan renal medüller iskemi ve tübül epitel hücrelerine direkt toksik hasar, reaktif oksijen türlerinin üretiminin artmasına arabuluculuk edebilir (49). Her iki durumda SOR artmakta ve buna bağlı olarak ortaya çıkan oksidatif stres nedeni ile renal hasar meydana gelmektedir. Literatürde bazı antioksidan ajanların koruyucu etkileri olduğunu gösteren çok sayıda makale olması da bu hipotezi desteklemektedir (99, 100). Bu antioksidan ajanlardan en bilineni NAC, üzerine en çok çalışma yapılan ve klinik uygulamalarda hidrasyona ek olarak en sık kullanılan ajandır. Koç ve ark. (149) ratlarda oluşturdukları deneysel KMN modelinde KM uygulanan gruptaki ratların serum üre, kreatinin ve MDA seviyelerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğunu ve NAC veya beta glukon kullanımı ile KMN gelişiminin önlenebileceğini ve MDA seviyeleri dahil diğer oksidatif stres belirteçlerinde anlamlı düşüş olduğunu göstermişlerdir.

Parvez ve ark. (146) yaptıkları bir çalışmada gliserol injeksiyonu ile birlikte diatrizoat verilen ratlarda MDA seviyelerini kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptamışlardır. Bakris ve ark. (150) KM verilmesiyle MDA seviyelerinde artış ve renal kan akımında anlamlı düşme saptamışlardır. Bu çalışmada da literatürdeki diğer çalışmalara benzer olarak MDA seviyeleri KM uygulaması sonrası KM grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmış bulunmuştur ($p<0.002$).

Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA oksidatif stresi gösteren biyokimyasal bir belirteçtir. Oksidatif stresle birlikte artan SOR'ların oluşturduğu lipid peroksidasyonu hücre membran hasarının ve parçalanmasının en önemli sebeplerinden biridir. Çünkü hücre membranlarındaki poliansatüre yağ asitlerinin peroksidasyonu membran akışkanlığında ve permeabilitesinde değişikliklere yol açar, protein degradasyonunu artırır, sonuç olarak hücre lizisi gelişir (151).

Vücutta oluşan reaktif oksijen ürünleri, belli bir denge dahilinde oluşmaktadır. SOR'lar hücrede mitokondriyal respirasyonda, hücrenin sinyal mekanizmasında ve bakterileri fagosite etmek gibi fonksiyonlarda gereklidir ve vücudun savunma sisteminin bir parçasıdır. Vücutta, SOR üretiminin artması sonucu oluşabilecek hasarı engellemek için antioksidan vitaminler, redükte glutatyon, SOD, CAT ve glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimler ve sülhidrillerden oluşan bir antioksidan savunma sistemi bulunur (150-152).

Böbrek üzerine istenmeyen etkileri olduğu bilinen birçok ajanın nefrotoksik etkisi ile oksidatif stres arasındaki ilişkiyi ve uygulanan antioksidan tedavilerin etkilerini göstermek için MDA düzeylerini ve CAT, SOD ve glutatyon peroksidaz gibi enzim aktivitelerini araştıran literatürler mevcuttur. Böbrek toksitesi bilinen sisplatin ile yapılan bir çalışmada, biyokimyasal olarak MDA düzeylerinin sisplatin grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yükseldiği ve antioksidan bir madde olan kafeik asit fenetil ester verilmesiyle MDA düzeylerinde düşme olduğu gözlenmiştir (153). Oksidatif stres aracılığıyla nefrotoksik etkileri gösterilen doksorubisin ile yapılan çalışmada, doksorubisin grubunda, MDA seviyesinin kontrol grubu ve koruyucu, antioksidan ajan verilen grup ile kıyaslandığında anlamlı düzeyde arttığı gösterilmiştir (154).

Chatterjee ve ark. (11) yaptıkları deneysel bir çalışmada, ratlarda 45 dakika süren bilateral renal iskemi ve ardından 6 saatlik reperfüzyon ile renal

iskemi/reperfüzyon hasarı oluşturmuşlardır. Böbrekteki etkilerini incelemek amacıyla ratlara operasyondan önce intraperitoneal olarak 10 mg/kg dozunda KAL-1 uygulamışlardır. Çalışmanın sonucunda iskemi/reperfüzyon hasarı ile oksidatif strese artışın ve renal fonksiyonlardaki bozulmanın KAL-1 ile engellenebileceğini belirtmişlerdir. Başka bir çalışmada hemorajik şoka bağlı renal hasar ve böbrek fonksiyonlardaki azalmanın KAL-1 uygulaması ile azalttığı gösterilmiştir (148).

Bu çalışmada KM ile birlikte KAL-1 verilen gruptaki MDA düzeyleri sadece KM verilen gruba göre daha düşük saptanmıştır. CAT düzeyi, KM ile birlikte KAL-1 verilen grupta kontrol grubuna göre daha yüksek, ancak sadece KM verilen gruba göre daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. Sonuçta antioksidan bir enzim olan CAT, artmış oksidatif strese karşı aktivite artışı ile cevap vermeye çalışmaktadır. SOD düzeylerinde ise gruplar arasında anlamlı farklılık izlenmemiştir. Bu sonuçlar literatürdeki KAL-1 ile yapılan çalışmalara benzer olarak KAL-1'in antioksidan etkilerinin olduğunu destekler niteliktedir (11, 148, 155).

Yapılan bu çalışmada biyokimyasal analizlerin yanı sıra KM uygulaması ile böbrek dokusunda oluşan histopatolojik değişiklikler ve buna karşı KAL-1'in koruyucu etkileri araştırılmıştır. KM grubundaki ratların böbrek dokularında PAS ve H&E boyaması sonucu glomerüler yapılarda düzensizlikler, tübüllerde dilatasyon, tübül epitellerinde ayrılma ve bozulmalar ile vakuolizasyonu gösteren şeffaf görümlü tübüller gözlenmiştir. Toprak ve ark. (147) diatrizoat ile deneysel KMN oluşturulmuş ratların böbrek dokularında çalışmamızdaki sonuçlara benzer bulgular elde etmişlerdir. Bu çalışmada KM ile birlikte KAL-1 uygulanan ratlarda tübüler dilatasyon, tübül epitellerinde ayrılma ve bozulmalar ile glukojenik vakuolizasyonun sadece KM uygulanan grupla karşılaştırıldığında belirgin olarak azaldığı gözlenmiştir. KAL-1'in koruyucu etkileri renal kortekste medüllaya göre daha belirgin olarak saptanmıştır. Bu çalışmaya benzer şekilde kalpain inhibisyonunun nefrotoksik ajanlara bağlı renal hasara olan etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, araştırmacılar p-aminofenol'e bağlı gelişen tübüler dilatasyon, tübüler epitel dökülmeleri ve hyalen birikimleri gibi renal hasar bulgularının kalpain inhibisyonu ile azaldığını gözlemişlerdir (156).

Hipoksik durumlar veya nefrotoksik ajanlara bağlı gelişen renal hasarda kalpain ve apoptozis arasındaki ilişki birçok çalışmada gösterilmiştir. Programlı

hücre ölümü olarak adlandırılan apoptozis, hücrelerin proliferasyon ve diferansiyasyonu sırasında ortadan kaldırılmasında rol alan bir ölüm şeklidir (157). Apoptotik hücre ölümü, Bcl-2 ailesinden proteinler, kalpainler ve kaspazların rol aldığı apoptotik sinyal yollarının aktivasyonu ile düzenlenmektedir. Bcl-2 ve Bcl-XL hücre ölümünü engelleyen anti-apoptotik faktörler olup, Bax ve Bad ise hücre ölümüne neden olan pro-apoptotik faktörlerdir (158). Nefrotoksik etkisi iyi bilinen sisplatin ile yapılan bir çalışmada, kalpain ve kaspaz sistemlerinin sisplatine bağlı gelişen renal hasarda apoptozisi arttırarak hücre ölümüne neden oldukları ve bu sistemlerin inhibisyonu ile apoptozisin azaldığı ve renal hasarda iyileşme olduğu gözlenmiştir (135). Romano ve ark. (59) YOKM uygulaması ile renal hücrelerde kaspaz-3 ve kaspaz-9 aktivitelerinin ve apoptozisin arttığını göstermişlerdir. YOKM diatrizoat uygulaması sonucu gelişen renal hücre hasarının incelendiği bir çalışmada, diatrizoatın insan renal tübüler epitel hücre kültürlerinde Bcl-2 üretimi ve kaspaz-3 aktivitesindeki artış ile apoptozise neden olduğu gösterilmiştir (159).

Bu çalışmada apoptotik hücrelerin belirlenmesi için TUNEL yöntemi ile boyanan preparatların ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; kontrol grubu ile kıyaslandığında KM grubunda apoptotik hücrelerde anlamlı bir artış olduğu gözlenmiştir. Lee ve ark. (160) tarafından yapılan bir çalışmada, ratlara KM uygulaması sonucu renal tübüler epitel hücrelerinde gelişen apoptozis TUNEL metodu ile araştırılmıştır. Bizim yaptığımız çalışma sonuçlarına paralel olarak, KM uygulanan gruplarda TUNEL boyamasında artış saptanmıştır ve çalışmadaki başka bir bulgu da diabetik ratlarda apoptozisin normal ratlara göre belirgin olarak artmış olduğunun saptanmasıdır. Bir anjiyotensin reseptör blokörü olan telmisartan ile yapılmış bir çalışmada, ratlarda oluşturulmuş kontrast nefropatiye bağlı apoptozis artışının telmisartan uygulaması ile engellendiği ve renal fonksiyonların korunduğu gösterilmiştir (161).

Bu çalışmada KM + KAL-1 grubunda KM grubu ile kıyaslandığında apoptotik hücrelerde anlamlı bir azalma gözlenmiştir. KAL-1 uygulaması ile TUNEL pozitif boyanan hücrelerdeki azalma, KMN oluşturulan ratların renal tübüler hücrelerinde, kalpain artışına bağlı geliştiği düşünülen sinyal iletiminin bozulması, membran defektleri ve apoptozisteki artışın kalpain inhibisyonu ile engellenmesine bağlı olabilir. Ayrıca KAL-1, antioksidan özellikleri nedeniyle

oksidatif strete azalmaya yol açarak oksidatif strese bağlı gelişen apoptozisi engelliyor olabilir.

Alzheimer hastalığı, kanser, musküler distrofi, travmatik nörolojik hasar, ateroskleroz ve toksik veya hipoksik durumlarda gelişen organ hasarı gibi hastalıklarda rolü olduğu düşünölen kalpainler üzerine son yıllarda birçok araştırma yapılmaktadır. Kalpain inhibisyonu tedavide kullanılabilir önemli bir stratejidir.

Sonuç olarak bu çalışmada; bir kalpain inhibitörü olan KAL-1'in, ratlarda deneysel olarak oluşturulmuş KMN modelinde, oksidatif stres artışını ve apoptozisi engelleyerek renal fonksiyonların korunmasını sağladığı saptanmıştır. Kalpain inhibitörleri ile yapılacak in-vitro veya in-vivo çalışmalar birçok hastalıkta uygulanan tedavilere farklı bakış açıları kazandırabilecektir. Kalpain inhibitörlerinin klinik kullanımının önündeki en büyük engel, spesifitedeki eksiklikleri nedeniyle tüm sistemin proteazları ve diğer proteolitik enzimleri inhibe etmesi gibi görünmektedir. Gelecekte daha ileri ve ayrıntılı çalışmalarla, kalpain sistemi ile ilişkili patofizyolojik mekanizmaların aydınlatılabilmesi ve kalpain inhibitörlerinin eksiklerinin tamamlanması sayesinde birçok hastalıkta yeni tedavi yaklaşımları oluşturulabilecektir.

5. KAYNAKLAR

1. Reddan D, Laville M, Garovic VD. Contrast-induced nephropathy and its prevention: What do we really know from evidence-based findings? *J Nephrol* 2009; 22: 333-351.
2. Katzberg RW, Haller C. Contrast-induced nephrotoxicity: clinical landscape. *Kidney Int Suppl* 2006: 3-7.
3. Lindholt JS. Radiocontrast induced nephropathy. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2003; 25: 296-304.
4. Barrett BJ, Parfrey PS. Clinical practice. Preventing nephropathy induced by contrast medium. *N Engl J Med* 2006; 354: 379-386.
5. Heyman SN, Reichman J, Brezis M. Pathophysiology of radiocontrast nephropathy: a role for medullary hypoxia. *Invest Radiol* 1999; 34: 685-691.
6. Katholi RE, Woods WT, Taylor GJ, Deitrick CL, Womack KA, Katholi CR, et al. Oxygen free radicals and contrast nephropathy. *Am J Kidney Dis* 1998; 32: 64-71.
7. Toprak O, Cirit M, Bayata S, Yesil M. Review of the radiocontrast nephropathy risk profiles and risk stratification. *Anadolu Kardiyol Derg* 2004; 4: 331-335.
8. Edelstein C, Schrier R. Akut böbrek yetmezliği: Patogenez, Tanı ve Tedavi. (Editör) Schrier R (Çeviren) s.405-410 Süleymanlar G, Böbrek ve Elektrolit Hastalıkları. 1. Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri.
9. Sorimachi H, Ishiura S, Suzuki K. Structure and physiological function of calpains. *Biochem J* 1997; 328: 721-732.
10. Wang KK, Yuen PW. Development and therapeutic potential of calpain inhibitors. *Adv Pharmacol* 1997; 37: 117-152.
11. Chatterjee PK, Brown PA, Cuzzocrea S, Zacharowski K, Stewart KN, Mota-Filipe H, et al. Calpain inhibitor-1 reduces renal ischemia/reperfusion injury in the rat. *Kidney International* 2001; 59: 2073-2083.
12. Briguori C, Tavano D, Colombo A. Contrast agent--associated nephrotoxicity. *Prog Cardiovasc Dis* 2003; 45: 493-503.

13. Stevens MA, McCullough PA, Tobin KJ, Speck JP, Westveer DC, Guido-Allen DA, et al. A prospective randomized trial of prevention measures in patients at high risk for contrast nephropathy: results of the P.R.I.N.C.E. Study. *Prevention of Radiocontrast Induced Nephropathy Clinical Evaluation. J Am Coll Cardiol* 1999; 33: 403-411.
14. Rihal CS, Textor SC, Grill DE, Berger PB, Ting HH, Best PJ, et al. Incidence and prognostic importance of acute renal failure after percutaneous coronary intervention. *Circulation* 2002; 105: 2259-2264.
15. McCullough PA, Wolyn R, Rocher LL, Levin RN, O'Neil WW. Acute renal failure after coronary intervention: incidence, risk factors, and relationship to mortality. *Am J Med* 1997; 103: 368-375.
16. Porter GA. Contrast-associated nephropathy. *Am J Cardiol* 1989; 64: 22-26.
17. Nash K, Hafeez A, Hou S. Hospital-acquired renal insufficiency. *Am J Kidney Dis* 2002; 39: 930-936.
18. Parfrey PS, Griffiths SM, Barrett BJ, Paul MD, Genge M, Withers J, et al. Contrast material-induced renal failure in patients with diabetes mellitus, renal insufficiency, or both: a prospective controlled study. *N Engl J Med* 1989; 320: 143-149.
19. Rich MW, Crecelius CA. Incidence, risk factors, and clinical course of acute renal insufficiency after cardiac catheterization in patients 70 years of age or older. *Arch Intern Med* 1995; 150: 1237-1242.
20. Toprak O, Cirit M. Risk factors and therapy strategies for contrast-induced nephropathy. *Ren Fail* 2006; 28: 365-381.
21. Morris TW, Katzberg RW, Fischer HW. A comparison of the hemodynamic responses to metrizamide and meglumine/sodium diatrizoate in canine renal angiography. *Invest Radiol* 1978; 13: 74-78.
22. Bakris GL, Burnett JC. A role for calcium in radiocontrast-induced reductions in renal hemodynamics. *Kidney International* 1985; 27: 465-468.

23. Heyman SN, Brezis M, Epstein FH, Spokes K, Silva P, Rosen S. Early renal medullary hypoxic injury from radiocontrast and indomethacin. *Kidney International* 1991; 40: 632-642.
24. Heyman SN, Rosen S, Brezis M. Radiocontrast nephropathy: a paradigm for the synergism between toxic and hypoxic insults in the kidney. *Exp Nephrol* 1994; 2: 153-157.
25. Nygren A. Contrast media and regional renal blood flow. A study of the effects of ionic and non-ionic monomeric and dimeric contrast media in the rat. *Acta Radiol Suppl* 1992; 378: 123-135.
26. Liss P, Nygren A, Olsson U, Ulfendahl HR, Erikson U. Effects of contrast media and mannitol on renal medullary blood flow and red cell aggregation in the rat kidney. *Kidney International* 1996; 49: 1268-1275.
27. Heyman SN, Fuchs S, Jaffe R, Shina A, Ellezian L, Brezis M, et al. Renal microcirculation and tissue damage during acute ureteral obstruction in the rat: effect of saline infusion, indomethacin and radiocontrast. *Kidney International* 1997; 51: 653-663.
28. Palm F, Carlsson PO, Fasching A, Hellberg O, Nygren A, Hansell P, et al. Effects of the contrast medium iopromide on renal hemodynamics and oxygen tension in the diabetic rat kidney. *Adv Exp Med Biol* 2003; 530: 653-659.
29. Rudnick MR, Kesselheim A, Goldfarb S. Contrast-induced nephropathy: how it develops, how to prevent it. *Cleve Clin J Med* 2006; 73: 75-80, 3-7.
30. Katzberg RW. Urography into the 21st century: new contrast media, renal handling, imaging characteristics, and nephrotoxicity. *Radiology* 1997; 204: 297-312.
31. Kohan DE. Endothelins in the normal and diseased kidney. *Am J Kidney Dis* 1997; 29: 2-26.
32. Liss P, Carlsson PO, Nygren A, Palm F, Hansell P. Et-A receptor antagonist BQ123 prevents radiocontrast media-induced renal medullary hypoxia. *Acta Radiol* 2003; 44: 111-117.

33. Wang A, Holcslaw T, Bashore TM, Freed MI, Miller D, Rudnick MR, et al. Exacerbation of radiocontrast nephrotoxicity by endothelin receptor antagonism. *Kidney International* 2000; 57: 1675-1680.
34. Arend LJ, Bakris GL, Burnett JC, Megerian C, Spielman WS. Role for intrarenal adenosine in the renal hemodynamic response to contrast media. *J Lab Clin Med* 1987; 110: 406-411.
35. Pflueger A, Larson TS, Nath KA, King BF, Gross JM, Knox FG. Role of adenosine in contrast media-induced acute renal failure in diabetes mellitus. *Mayo Clin Proc* 2000; 75: 1275-1283.
36. Ribeiro L, de Assuncao e Silva F, Kurihara RS, Schor N, Mieko E, Higa S. Evaluation of the nitric oxide production in rat renal artery smooth muscle cells culture exposed to radiocontrast agents. *Kidney International* 2004; 65: 589-596.
37. Touati C, Idee JM, Deray G, Santus R, Balut C, Beaufils H, et al. Modulation of the renal effects of contrast media by endothelium-derived nitric oxide in the rat. *Invest Radiol* 1993; 28: 814-820.
38. Agmon Y, Peleg H, Greenfeld Z, Rosen S, Brezis M. Nitric oxide and prostanoids protect the renal outer medulla from radiocontrast toxicity in the rat. *J Clin Invest* 1994; 94: 1069-1075.
39. Dzgoeva FU, Kutyrina IM, Burgova EN, Salbiev KD, Vanin AF. Decrease in kidney nitric oxide formation detected by electron paramagnetic resonance in acute renal failure due to contrast media. *Nephron* 1999; 81: 441-442.
40. Solomon R. The role of osmolality in the incidence of contrast-induced nephropathy: a systematic review of angiographic contrast media in high risk patients. *Kidney International* 2005; 68: 2256-2263.
41. Rudnick MR, Goldfarb S, Wexler L, Ludbrook PA, Murphy MJ, Halpern EF, et al. Nephrotoxicity of ionic and nonionic contrast media in 1196 patients: a randomized trial. The Iohexol Cooperative Study. *Kidney International* 1995; 47: 254-261.
42. Barrett BJ, Carlisle EJ. Metaanalysis of the relative nephrotoxicity of high- and low-osmolality iodinated contrast media. *Radiology* 1993; 188: 171-178.

43. Brezis M, Rosen S. Hypoxia of the renal medulla--its implications for disease. *N Engl J Med* 1995; 332: 647-655.
44. Rudnick MR, Goldfarb S. Pathogenesis of contrast-induced nephropathy: experimental and clinical observations with an emphasis on the role of osmolality. *Rev Cardiovasc Med* 2003; 45: 28-33.
45. Moreau JF, Droz D, Noel LH, Leibowitch J, Jungers P, Michel JR. Tubular nephrotoxicity of water-soluble iodinated contrast media. *Invest Radiol* 1980; 15: 54-60.
46. Nicot GS, Merle LJ, Charmes JP, Valette JP, Nouaille YD, Lachatre GF, et al. Transient glomerular proteinuria, enzymuria, and nephrotoxic reaction induced by radiocontrast media. *JAMA* 1984; 252: 2432-2434.
47. Thomsen HS. Contrast media- and pharmacologic-induced nephropathies. Effects of diatrizoate and iohexol on urine profiles in rats. *Invest Radiol* 1990; 25: 129-132.
48. Jung K. Urinary enzymes and low molecular weight proteins as markers of tubular dysfunction. *Kidney International* 1994; 47: 29-33.
49. Tumlin J, Stacul F, Adam A, Becker CR, Davidson C, Lameire N, et al. Pathophysiology of contrast-induced nephropathy. *Am J Cardiol* 2006; 98: 14-20.
50. Persson PB, Hansell P, Liss P. Pathophysiology of contrast medium-induced nephropathy. *Kidney International* 2005; 68: 14-22.
51. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, 1. Baskı. Konya: Mimoza Yayınları, 1995; 3-95.
52. Halliwell B, Gutteridge JM, Cross CE. Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now? *J Lab Clin Med* 1992; 119: 598-620.
53. Serafini M, Del Rio D. Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the Total Antioxidant Capacity the right tool? *Redox Rep* 2004; 9: 145-152.
54. Scott JA, King GL. Oxidative stress and antioxidant treatment in diabetes. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1031: 204-213.

55. Locatelli F, Canaud B, Eckardt KU, Stenvinkel P, Wanner C, Zoccali C. Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 1272-1280.
56. Ide JM, Lancelot E, Pines E, Corot C. Prophylaxis of iodinated contrast media-induced nephropathy: a pharmacological point of view. *Invest Radiol* 2004; 39: 155-170.
57. Hizoh I, Strater J, Schick CS, Kubler W, Haller C. Radiocontrast-induced DNA fragmentation of renal tubular cells in vitro: role of hypertonicity. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 911-918.
58. Hizoh I, Haller C. Radiocontrast-induced renal tubular cell apoptosis: hypertonic versus oxidative stress. *Invest Radiol* 2002; 37: 428-434.
59. Romano G, Briguori C, Quintavalle C, Zanca C, Rivera NV, Colombo A, et al. Contrast agents and renal cell apoptosis. *Eur Heart J* 2008; 29: 2569-2576.
60. Dawney AB, Thornley C, Nockler I, Webb JA, Cattell WR. Tamm-Horsfall glycoprotein excretion and aggregation during intravenous urography. Relevance to acute renal failure. *Invest Radiol* 1985; 20: 53-57.
61. McCarthy CS, Becker JA. Multiple myeloma and contrast media. *Radiology* 1992; 183: 519-521.
62. Gyoten M. (Activation of the complement system and cytokine production by radiographic contrast media in vascular endothelial cells in vitro). *Nippon Igaku Hoshasen Gakkai Zasshi* 1998; 58: 811-815.
63. Mehran R, Aymong ED, Nikolsky E, Lasic Z, Iakovou I, Fahy M, et al. A simple risk score for prediction of contrast-induced nephropathy after percutaneous coronary intervention: development and initial validation. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44: 1393-1399.
64. Moore RD, Steinberg EP, Powe NR, White RI, Brinker JA, Fishman EK, et al. Frequency and determinants of adverse reactions induced by high-osmolality contrast media. *Radiology* 1989; 170: 727-732.

65. Davidson CJ, Laskey WK, Hermiller JB, Harrison JK, Matthai W, Vlietstra RE, et al. Randomized trial of contrast media utilization in high-risk PTCA: the COURT trial. *Circulation* 2000; 101: 2172-2177.
66. Gruberg L, Mintz GS, Mehran R, Gangas G, Lansky AJ, Kent KM, et al. The prognostic implications of further renal function deterioration within 48 h of interventional coronary procedures in patients with pre-existent chronic renal insufficiency. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36: 1542-1548.
67. Dangas G, Iakovou I, Nikolsky E, Aymong ED, Mintz GS, Kipshidze NN, et al. Contrast-induced nephropathy after percutaneous coronary interventions in relation to chronic kidney disease and hemodynamic variables. *Am J Cardiol* 2005; 95: 13-19.
68. Cochran ST, Wong WS, Roe DJ. Predicting angiography-induced acute renal function impairment: clinical risk model. *AJR Am J Roentgenol* 1983; 141: 1027-1033.
69. Chertow GM, Normand SL, McNeil BJ. "Renalism": inappropriately low rates of coronary angiography in elderly individuals with renal insufficiency. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 2462-2468.
70. Brandes RP, Fleming I, Busse R. Endothelial aging. *Cardiovasc Res* 2005; 66: 286-294.
71. McCullough PA, Adam A, Becker CR, Davidson C, Lameire N, Stacul F, et al. Epidemiology and prognostic implications of contrast-induced nephropathy. *Am J Cardiol* 2006; 98: 5-13.
72. McCullough PA, Stacul F, Becker CR, Adam A, Lameire N, Tumlin JA, et al. Contrast-Induced Nephropathy (CIN) Consensus Working Panel: executive summary. *Rev Cardiovasc Med* 2006; 7: 177-197.
73. McCullough PA, Adam A, Becker CR, Davidson C, Lameire N, Stacul F, et al. Risk prediction of contrast-induced nephropathy. *Am J Cardiol* 2006; 98: 27-36.
74. Weisberg LS, Kurnik PB, Kurnik BR. Risk of radiocontrast nephropathy in patients with and without diabetes mellitus. *Kidney International* 1994; 45: 259-265.

75. Sc Schillinger M, Haumer M, Mlekusch W, Schlerka G, Ahmadi R, Minar E. Predicting renal failure after balloon angioplasty in high-risk patients. *J Endovasc Ther* 2001; 8: 609-614.
76. Esnault VL. Radiocontrast media-induced nephrotoxicity in patients with renal failure: rationale for a new double-blind, prospective, randomized trial testing calcium channel antagonists. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17: 1362-1364.
77. Anderson S, Meyer TW, Rennke HG, Brenner BM. Control of glomerular hypertension limits glomerular injury in rats with reduced renal mass. *J Clin Invest* 1985; 76: 612-619.
78. Berkseth RO, Kjellstrand CM. Radiologic contrast-induced nephropathy. *Med Clin North Am* 1984; 68: 351-370.
79. Alsina J. Management of nephrotoxic drugs. *Transplant Proc* 1999; 31: 1117-1179.
80. Alamartine E, Phayphet M, Thibaudin D, Barral FG, Veyret C Contrast medium-induced acute renal failure and cholesterol embolism after radiological procedures: incidence, risk factors, and compliance with recommendations. *Eur J Intern Med* 2003; 14: 426-431.
81. Peach MJ, Dostal DE. The angiotensin II receptor and the actions of angiotensin II. *J Cardiovasc Pharmacol* 1990; 16: 25-30.
82. Gupta RK, Kapoor A, Tewari S, Sinha N, Sharma RK. Captopril for prevention of contrast-induced nephropathy in diabetic patients: a randomised study. *Indian Heart J* 1999; 51: 521-526.
83. Louis BM, Hoch BS, Hernandez C, Namboodiri N, Neiderman G, Nissenbaum A, et al. Protection from the nephrotoxicity of contrast dye. *Ren Fail* 1996; 18: 639-646.
84. Toprak O, Cirit M, Bayata S, Yesil M, Aslan SL. (The effect of pre-procedural captopril on contrast-induced nephropathy in patients who underwent coronary angiography). *Anadolu Kardiyol Derg* 2003; 3: 98-103.

85. Rosenstock JL, Bruno R, Kim JK, Lubarsky L, Schaller R, Panagopoulos G, et al. The effect of withdrawal of ACE inhibitors or angiotensin receptor blockers prior to coronary angiography on the incidence of contrast-induced nephropathy. *Int Urol Nephrol* 2008; 40: 749-55.
86. Radyolojide Kullanılan Kontrast Maddeler: Tıbbi Görüntüleme Fiziği, Köroğlu M, Oyar O, Gülsoy UK., Isparta. 2003: 377-394.
87. Davidson C, Stacul F, McCullough PA, Tumlin J, Adam A, Lameire N, et al. Contrast medium use. *Am J Cardiol* 2006; 98: 42-58.
88. Harris KG, Smith TP, Cragg AH, Lemke JH. Nephrotoxicity from contrast material in renal insufficiency: ionic versus nonionic agents. *Radiology* 1991; 179: 849-852.
89. Aspelin P, Aubry P, Fransson SG, Strasser R, Willenbrock R, Berg KJ. Nephrotoxic effects in high-risk patients undergoing angiography. *N Engl J Med* 2003; 348: 491-499.
90. Goldenberg I, Matetzky S. Nephropathy induced by contrast media: pathogenesis, risk factors and preventive strategies. *Cmaj* 2005; 172: 1461-1471.
91. Cigarroa RG, Lange RA, Williams RH, Hillis LD. Dosing of contrast material to prevent contrast nephropathy in patients with renal disease. *Am J Med* 1989; 86: 649-652.
92. Nikolsky E, Mehran R, Turcot D, Aymong ED, Mintz GS, Lasic Z, et al. Impact of chronic kidney disease on prognosis of patients with diabetes mellitus treated with percutaneous coronary intervention. *Am J Cardiol* 2004; 94: 300-305.
93. Trivedi HS, Moore H, Nasr S, Aggarwal K, Agrawal A, Goel P, et al. A randomized prospective trial to assess the role of saline hydration on the development of contrast nephrotoxicity. *Nephron Clin Pract* 2003; 93: 29-34.
94. Cox CD, Tsikouris JP. Preventing contrast nephropathy: what is the best strategy? A review of the literature. *J Clin Pharmacol* 2004; 44: 327-337.
95. Erley CM. Does hydration prevent radiocontrast-induced acute renal failure? *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 1064-1066.

96. Taylor AJ, Hotchkiss D, Morse RW, McCabe J. PREPARED: Preparation for Angiography in Renal Dysfunction: a randomized trial of inpatient vs outpatient hydration protocols for cardiac catheterization in mild-to-moderate renal dysfunction. *Chest* 1998; 114: 1570-1574.
97. Mueller C, Buerkle G, Buettner HJ, Petersen J, Perruchoud AP, Eriksson U, et al. Prevention of contrast media-associated nephropathy: randomized comparison of 2 hydration regimens in 1620 patients undergoing coronary angioplasty. *Arch Intern Med* 2002; 162: 329-336.
98. Stacul F, Adam A, Becker CR, Davidson C, Lameire N, McCullough PA, et al. Strategies to reduce the risk of contrast-induced nephropathy. *Am J Cardiol* 2006; 98: 59-77.
99. Tepel M, Zidek W. Acetylcysteine for radiocontrast nephropathy. *Curr Opin Crit Care* 2001; 7: 390-392.
100. Baker CS, Wragg A, Kumar S, De Palma R, Baker LR, Knight CJ. A rapid protocol for the prevention of contrast-induced renal dysfunction: the RAPPID study. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41: 2114-2118.
101. Briguori C, Colombo A, Violante A, Balestrieri P, Manganelli F, Paolo Elia P, et al. Standard vs double dose of N-acetylcysteine to prevent contrast agent associated nephrotoxicity. *Eur Heart J* 2004; 25: 206-211.
102. Tadros GM, Mouhayar EN, Akinwande AO, Campbell B, Wood C, Blankenship JA. Prevention of radiocontrast-induced nephropathy with N-acetylcysteine in patients undergoing coronary angiography. *J Invasive Cardiol* 2003; 15: 311-314.
103. Birck R, Krzossok S, Markowetz F, Schnulle P, van der Woude FJ, Braun C. Acetylcysteine for prevention of contrast nephropathy: meta-analysis. *Lancet* 2003; 362: 598-603.
104. Pannu N, Wiebe N, Tonelli M. Prophylaxis strategies for contrast-induced nephropathy. *JAMA* 2006; 295: 2765-2779.
105. Bocalandro F, Amhad M, Smalling RW, Sdringola S. Oral acetylcysteine does not protect renal function from moderate to high doses of intravenous radiographic contrast. *Catheter Cardiovasc Interv* 2003; 58: 336-341.

106. Hoffmann U, Fischereder M, Kruger B, Drobnik W, Kramer BK. The value of N-acetylcysteine in the prevention of radiocontrast agent-induced nephropathy seems questionable. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 407-410.
107. Merten GJ, Burgess WP, Gray LV, Holleman JH, Roush TS, Kowalchuk GJ, et al. Prevention of contrast-induced nephropathy with sodium bicarbonate: a randomized controlled trial. *JAMA* 2004; 291: 2328-2334.
108. Adolph E, Holdt-Lehmann B, Chatterjee T, Paschka S, Prutt A, Schneider H, et al. Renal Insufficiency Following Radiocontrast Exposure Trial (REINFORCE): a randomized comparison of sodium bicarbonate versus sodium chloride hydration for the prevention of contrast-induced nephropathy. *Coron Artery Dis* 2008; 19: 413-419.
109. Meier P, Ko DT, Tamura A, Tamhane U, Gurm HS. Sodium bicarbonate-based hydration prevents contrast-induced nephropathy: a meta-analysis. *BMC Med* 2009; 7: 23-24.
110. Hans SS, Hans BA, Dhillon R, Dmuchowski C, Glover J. Effect of dopamine on renal function after arteriography in patients with pre-existing renal insufficiency. *Am Surg* 1998; 64: 432-436.
111. Hans B, Hans SS, Mittal VK, Khan TA, Patel N, Dahn MS. Renal functional response to dopamine during and after arteriography in patients with chronic renal insufficiency. *Radiology* 1990; 176: 651-654.
112. Gare M, Haviv YS, Ben-Yehuda A, Rubinger D, Bdolah-Abram T, Fuchs S, et al. The renal effect of low-dose dopamine in high-risk patients undergoing coronary angiography. *J Am Coll Cardiol* 1999; 34: 1682-1688.
113. Hunter DW, Chamsuddin A, Bjarnason H, Kowalik K. Preventing contrast-induced nephropathy with fenoldopam. *Tech Vasc Interv Radiol* 2001; 4: 53-56.
114. Chamsuddin AA, Kowalik KJ, Bjarnason H, Dietz CA, Rosenberg MS, Gomes MD, et al. Using a dopamine type 1A receptor agonist in high-risk patients to ameliorate contrast-associated nephropathy. *AJR Am J Roentgenol* 2002; 179: 591-596.

115. Stone GW, McCullough PA, Tumlin JA, Lepor NE, Madyoon H, Murray P, et al. Fenoldopam mesylate for the prevention of contrast-induced nephropathy: a randomized controlled trial. *JAMA* 2003; 290: 2284-2291.
116. Neumayer HH, Junge W, Kufner A, Wenning A. Prevention of radiocontrast-media-induced nephrotoxicity by the calcium channel blocker nitrendipine: a prospective randomised clinical trial. *Nephrol Dial Transplant* 1989; 4: 1030-1036.
117. Cacoub P, Deray G, Baumelou A, Jacobs C. No evidence for protective effects of nifedipine against radiocontrast-induced acute renal failure. *Clin Nephrol* 1988; 29: 215-216.
118. Erley CM, Duda SH, Schlepckow S, Koehler J, Huppert PE, Strohmaier WL, et al. Adenosine antagonist theophylline prevents the reduction of glomerular filtration rate after contrast media application. *Kidney International* 1994; 45: 1425-1431.
119. Huber W, Ilgmann K, Page M, Hennig M, Schweigart U, Jeschke B, et al. Effect of theophylline on contrast material-nephropathy in patients with chronic renal insufficiency: controlled, randomized, double-blinded study. *Radiology* 2002; 223: 772-779.
120. Sterner G, Frennby B, Kurkus J, Nyman U. Does post-angiographic hemodialysis reduce the risk of contrast-medium nephropathy? *Scand J Urol Nephrol* 2000; 34: 323-326.
121. Vogt B, Ferrari P, Schonholzer C, Marti HP, Mohaupt M, Wiederkehr M, et al. Prophylactic hemodialysis after radiocontrast media in patients with renal insufficiency is potentially harmful. *Am J Med* 2001; 111: 692-698.
122. Marenzi G, Lauri G, Campodonico J, Marana I, Assanelli E, De Metrio M, et al. Comparison of two hemofiltration protocols for prevention of contrast-induced nephropathy in high-risk patients. *Am J Med* 2006; 119: 155-162.
123. Bronk SF, Gores GJ. pH-dependent nonlysosomal proteolysis contributes to lethal anoxic injury of rat hepatocytes. *Am J Physiol* 1993; 264: 744-751.
124. Plomp PJ, Gordon PB, Meijer AJ, Hoyvik H, Seglen PO. Energy dependence of different steps in the autophagic-lysosomal pathway. *J Biol Chem* 1989; 264: 6699-6704.

125. Thornberry NA, Rano TA, Peterson EP, Rasper DM, Timkey T, Garcia-Calvo M, et al. A combinatorial approach defines specificities of members of the caspase family and granzyme B. Functional relationships established for key mediators of apoptosis. *J Biol Chem* 1997; 272: 17907-11911.
126. Hu S, Snipas SJ, Vincenz C, Salvesen G, Dixit VM. Caspase-14 is a novel developmentally regulated protease. *J Biol Chem* 1998; 273: 29648-29653.
127. Salvesen GS, Dixit VM. Caspases: intracellular signaling by proteolysis. *Cell* 1997; 91: 443-446.
128. Nicholson DW, Ali A, Thornberry NA, Vaillancourt JP, Ding CK, Gallant M, et al.. Identification and inhibition of the ICE/CED-3 protease necessary for mammalian apoptosis. *Nature* 1995; 376: 37-43.
129. Fraser A, Evan G. A license to kill. *Cell* 1996; 85: 781-784.
130. Barrett MJ, Goll DE, Thompson VF. Effect of substrate on Ca²⁺(+)-concentration required for activity of the Ca²⁺(+)-dependent proteinases, mu- and m-calpain. *Life Sci* 1991; 48: 1659-1669.
131. Suzuki K, Saido TC, Hirai S. Modulation of cellular signals by calpain. *Ann N Y Acad Sci* 1992; 674: 218-227.
132. Edelstein CL, Wieder ED, Yaqoob MM, Gengaro PE, Burke TJ, Nemenoff RA, et al. The role of cysteine proteases in hypoxia-induced rat renal proximal tubular injury. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 7662-7666.
133. Edelstein CL, Ling H, Gengaro PE, Nemenoff RA, Bahr BA, Schrier RW. Effect of glycine on prelethal and postlethal increases in calpain activity in rat renal proximal tubules. *Kidney International* 1997; 52: 1271-1278.
134. Edelstein CL, Shi Y, Schrier RW. Role of caspases in hypoxia-induced necrosis of rat renal proximal tubules. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 1940-1949.
135. Dursun B, He Z, Somerset H, Oh DJ, Faubel S, Edelstein CL. Caspases and calpain are independent mediators of cisplatin-induced endothelial cell necrosis. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; 291: 578-587.

136. Donkor IO. Calpain inhibitors: a survey of compounds reported in the patent and scientific literature. *Expert Opin Ther Pat* 2011; 141-143.
137. Mehdi S. Cell-penetrating inhibitors of calpain. *Trends Biochem Sci* 1991; 16: 150-153.
138. Wang YX, Jia YF, Chen KM, Morcos SK. Radiographic contrast media induced nephropathy: experimental observations and the protective effect of calcium channel blockers. *Br J Radiol* 2001; 74: 1103-1108.
139. Matkovics B SL, Varga IS. Determination of enzyme activities in lipid peroxidation and glutathione pathways. *Laboratoriumi Diagnosztika* 1998; 15: 248-249.
140. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988; 34: 497-500.
141. Aebi H, Wyss SR, Scherz B, Skvaril F. Heterogeneity of erythrocyte catalase II. Isolation and characterization of normal and variant erythrocyte catalase and their subunits. *Eur J Biochem* 1974; 48: 137-145.
142. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-275.
143. Willingham MC. Cytochemical methods for the detection of apoptosis. *J Histochem Cytochem* 1999; 47: 1101-1110.
144. Negoescu A, Guillermet C, Lorimier P, Brambilla E, Labat-Moleur F. Importance of DNA fragmentation in apoptosis with regard to TUNEL specificity. *Biomed Pharmacother* 1998; 52: 252-258.
145. Yoshioka T, Fogo A, Beckman JK. Reduced activity of antioxidant enzymes underlies contrast media-induced renal injury in volume depletion. *Kidney Int* 1992; 41: 1008-1015.
146. Parvez Z, Rahman MA, Moncada R. Contrast media-induced lipid peroxidation in the rat kidney. *Invest Radiol* 1989; 24: 697-702.

147. Toprak O, Cirit M, Tanrisev M, Yazici C, Canoz O, Sipahioglu M, et al. Preventive effect of nebivolol on contrast-induced nephropathy in rats. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23: 853-859.
148. McDonald MC, Mota-Filipe H, Paul A, Cuzzocrea S, Abdelrahman M, Harwood S, et al. Calpain inhibitor I reduces the activation of nuclear factor-kappaB and organ injury/dysfunction in hemorrhagic shock. *FASEB J* 2001; 15: 171-186.
149. Koc E, Reis KA, Ebinc FA, Pasaoglu H, Demirtas C, Omeroglu S, et al. Protective effect of beta-glucan on contrast induced-nephropathy and a comparison of beta-glucan with nebivolol and N-acetylcysteine in rats. *Clin Exp Nephrol* 2011.
150. Bakris GL, Lass N, Gaber AO, Johes JD, Burnet JC. Radiocontrast medium-induced declines in renal function: a role for oxygen free radicals. *Am J Physiol* 1990; 258: 115-120.
151. Topsakal C, Erol FS, Ozveren MF, Yilmaz N, Ilhan N. Effects of methylprednisolone and dextromethorphan on lipid peroxidation in an experimental model of spinal cord injury. *Neurosurg Rev* 2002; 25: 258-266.
152. Schnackenberg CG. Physiological and pathophysiological roles of oxygen radicals in the renal microvasculature. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2002; 282: 335-342.
153. Ozen S, Akyol O, Iraz M, sogut S, Ozogurlu F, Ozyurt H, et al. Role of caffeic acid phenethyl ester, an active component of propolis, against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *J Appl Toxicol* 2004; 24: 27-35.
154. Yagmurca M, Erdogan H, Iraz M, Songur A, Ucar M, Fadillioglu E. Caffeic acid phenethyl ester as a protective agent against doxorubicin nephrotoxicity in rats. *Clin Chim Acta* 2004; 348: 27-34.
155. Harriman JF, Waters-Williams S, Chu DL, Powers JC, Schnellmann RG. Efficacy of novel calpain inhibitors in preventing renal cell death. *J Pharmacol Exp Ther* 2000; 294: 1083-1087.
156. Peyrou M, Hanna PE, Cribb AE. Calpain inhibition but not reticulum endoplasmic stress preconditioning protects rat kidneys from p-aminophenol toxicity. *Toxicol Sci* 2007; 99: 338-345.

157. Cohen JJ. Apoptosis. *Immunol Today* 1993; 14: 126-130.
158. Koh PO. Streptozotocin-induced diabetes increases the interaction of Bad/Bcl-XL and decreases the binding of pBad/14-3-3 in rat testis. *Life Sci* 2007; 81: 1079-1084.
159. Duan S, Zhou X, Liu F, Peng Y, Chen Y, Pei Y, et al. Comparative cytotoxicity of high-osmolar and low-osmolar contrast media on HKCs in vitro. *J Nephrol* 2006; 19: 717-724.
160. Lee HC, Sheu SH, Yen HW, Lai WT, Chang JG. JNK/ATF2 pathway is involved in iodinated contrast media-induced apoptosis. *Am J Nephrol* 2010; 31: 125-133.
161. Duan SB, Wang YH, Liu FY, Xu XQ, Wang P, Zou Q, et al. The protective role of telmisartan against nephrotoxicity induced by X-ray contrast media in rat model. *Acta Radiol* 2009; 50: 754-759.

6. ÖZGEÇMİŞ

1981 yılı Malatya doğumluyum. 1999 yılında İstanbul Cağaloğlu Anadolu Lisesinden mezun olup aynı yıl Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesini kazandım. Tıp eğitimimin 6. yılını Berlin Humboldt Üniversitesi Charite Tıp Fakültesinde tamamladım ve 2005 yılında mezun oldum. 2007 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Bölümünde Araştırma Görevlisi olarak göreve başladım, halen aynı bölümde görev yapmaktayım. Yabancı dillerim Almanca ve İngilizcedir. Evli ve bir çocuk babasıyım.